

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**Instituto de Ciências Biológicas**  
**Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal**

**Franciele de Carvalho Gonçalves**

**AVALIAÇÃO DOS IMPACTOS DE REJEITOS DE MINERAÇÃO SOBRE A  
COMUNIDADE PERIFÉRICA DA BACIA DO RIO DOCE**

Belo Horizonte

2022

Franciele de Carvalho Gonçalves

**AVALIAÇÃO DOS IMPACTOS DE REJEITOS DE MINERAÇÃO SOBRE A  
COMUNIDADE PERIFÉRICA DA BACIA DO RIO DOCE**

Dissertação de mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Instituto de Ciência Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal.

Linha de pesquisa: Botânica – Ecologia e Fisiologia Vegetal

Orientação: Professor Cleber Cunha Figueredo

Belo Horizonte

2022

043      Gonçalves, Franciele de Carvalho.  
Avaliação dos impactos de rejeitos de mineração sobre a comunidade  
periférica da Bacia do Rio Doce [manuscrito] / Franciele de Carvalho Gonçalves.  
- 2022.  
58 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientação: Professor Cleber Cunha Figueredo.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de  
Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal.

1. Degradação ambiental. 2. Indicadores Biológicos. 3. Rios. 4.  
Monitoramento. 5. Qualidade da Água. I. Figueredo, Cleber Cunha. II.  
Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III.  
Título.

CDU: 581



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL

FOLHA DE APROVAÇÃO

DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE

FRANCIELE DE CARVALHO GONÇALVES

Data: 31/01/2022 Entrada: 2019/2 Mat.: 2019748252 CPF: 09623379609

Título da defesa "Avaliação dos impactos de rejeitos de mineração sobre a comunidade periffica da Bacia do Rio Doce"

Membro da Comissão Examinadora	Instituição
Dr. Cleber Cunha Figueredo (orientador)	Universidade Federal de Minas Gerais
Dra. Adaises Simone Maciel da Silva	Universidade Federal de Minas Gerais
Dra. Gabriela von Rückert Heleno	Universidade do Estado de Minas Gerais

Assinaturas

Documento assinado eletronicamente por **Adaises Simone Maciel da Silva**, Professora do Magistério Superior, em 03/02/2022, às 15:46, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).Documento assinado eletronicamente por **Cleber Cunha Figueredo**, Professor do Magistério Superior, em 03/02/2022, às 16:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).Documento assinado eletronicamente por **Gabriela von Rückert Heleno**, Usuária Externa, em 03/02/2022, às 17:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).Documento assinado eletronicamente por **Danilo Rafael Mesquita Neves**, Coordenador(a) de curso de pós-graduação, em 04/02/2022, às 10:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **1178826** e o código CRC **283D2BE9**.

## AGRADECIMENTOS

À UFMG e ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, pela oportunidade de realizar o mestrado.

Ao meu orientador, Cleber, que acreditou no meu potencial, pelas suas palavras motivadoras, por sua confiança em mim. Sua dedicação e paciência como professor me fizeram acreditar que eu conseguiria realizar esse trabalho e isso me tornou mais forte e confiante. Agradeço imensamente ao profissionalismo e competência dele, pois me fizeram ver o quanto um bom professor pode influenciar a vida de um aluno e isso me mostrou o tipo de profissional que quero ser.

À professora Queila Garcia, pelo seu empenho e dedicação na coordenação desse projeto.

Ao Fábio Garcia, pelo apoio na fase inicial de elaboração do projeto, contribuindo com ideias importantes e estabelecimento dos sítios de amostragem.

À CAPES, pelo fomento da minha bolsa durante todo período do mestrado.

À técnica do laboratório, Michelle, por toda sua contribuição na redação do texto, mas também pelas palavras de carinho e apoio nos momentos de ansiedade e insegurança.

À toda a equipe do Laboratório e aos amigos da pós-graduação pelos breves, mas valiosos, momentos que tivemos a oportunidade de passar juntos, antes de sermos afastados por uma realidade tão dura e assustadora com a pandemia da Covid-19. Em especial agradeço à Ana Luiza Dornas, pela sua grande contribuição nesse projeto e por compartilhar seus conhecimentos comigo.

À Maíra Campos, pela sua disposição e auxílio na identificação taxonômica das algas.

Aos meus grandes amigos, que tornam toda e qualquer caminhada mais leve, principalmente às componentes do grupo Papagaias, que me acompanham nessa trajetória acadêmica desde 2010.

Às minhas famílias de sangue e de coração, que juntas compõem a minha rede de apoio sem a qual nada disso seria possível.

À minha filha Yasmin Fátima, que é a minha motivação diária na busca por ser uma pessoa e uma profissional melhor, por ser minha companheira e acima de tudo minha maior alegria.

A Deus, por tudo que me permitiu viver até o presente momento, possibilitando minha evolução nesse plano e por todas as pessoas com as quais Ele me presenteou.

## RESUMO

O rompimento da barragem de Fundão impactou diretamente alguns rios da bacia hidrográfica do rio Doce, causando alterações imediatas quanto ao uso e a qualidade de suas águas, bem como sobre sua biota. As comunidades perifíticas se destacam por serem representantes da base trófica de rios e são comumente usadas na bioindicação. Nosso objetivo foi analisar a estrutura destas comunidades a fim de verificar se há diferenças em sua composição segundo um gradiente de impacto pelos rejeitos. Amostras de água (para análises físicas, químicas e quantificação de metais) e das comunidades perifíticas foram obtidas semestralmente, entre novembro de 2017 e junho de 2019, em três sítios: rio do Carmo (referência, não impactado), rio Gualaxo do Norte (altamente impactado) e rio Doce (impacto intermediário). Utilizamos também a base de dados do monitoramento realizado na região pelo IGAM (Instituto Mineiro de Gestão das Águas) para comparar seus resultados e aqueles obtidos em nossas análises. Foi verificada uma separação espacial do rio Gualaxo do Norte em relação aos demais que parece estar relacionada a uma carência nutricional e química, visto que este rio foi caracterizado justamente pelas menores concentrações tanto de nutrientes quanto de metais. Tanto os resultados deste estudo, quanto aqueles obtidos pelo IGAM mostraram que todos os elementos avaliados estiveram abaixo dos valores estabelecidos pela legislação, exceto Al e Mn. Assim, a comunidade perifítica, ao apresentar menores valores de biomassa e de riqueza de espécies no sítio mais impactado na maioria das amostras, indicou que a onda de rejeitos que atingiu a bacia do rio Doce pode ter impactado a estrutura de suas comunidades. Além dessas variáveis, houve diferenças significativas na composição das comunidades perifíticas entre os rios estudados, com o rio Gualaxo do Norte sendo composto predominantemente pela espécie *Achnanthydium minutissimum*, relatada como tolerante a condições extremas. Foi evidenciado por esse estudo que as comunidades perifíticas usadas como bioindicadoras podem ser ferramentas complementares às tradicionalmente usadas no monitoramento dos sistemas aquáticos.

*Palavras-chave: degradação ambiental, microorganismos bioindicadores, monitoramento de rios, qualidade da água.*

## ABSTRACT

The collapse of the Fundão dam impacted some rivers in the Doce river hydrographic basin. Periphytic communities are important because they are the base of trophic chains in rivers and they can also be used for bioindication. Our objective was to analyze the structure of these communities in order to verify if there are differences in their composition according to a gradient of impact by tailings from Fundão dam. Water samples (for physical, chemical and metal analyses) and periphytic communities were obtained every six months, between November 2017 and June 2019, at three sites: Carmo river (reference, non-impacted), Gualaxo do Norte river (highly impacted) and Doce river (intermediate impact). We also used the database produced by a monitoring carried out in the region by the IGAM (Minas Gerais Water Management Institute) to compare its results with those obtained in our analyses. The analyses showed that Gualaxo do Norte river was specially different from the others sampled sites. Results suggest that many differences were related to a nutritional and chemical deficiency, since this river was characterized by the lowest concentrations of both nutrients and metals. The results of this study and also those obtained by IGAM showed that all the elements evaluated were below the values established by legislation, except Al and Mn. Thus, the commonly observed lower biomass and richness of the periphytic community in the most impacted site indicated that the tailings wave may have impacted the structure of the communities in a different way than we supposed in the beginning of our study. Furthermore, there were significant differences in the composition of periphytic communities between the rivers studied, with the Gualaxo do Norte river being predominantly composed by *Achnanthydium minutissimum*, reported as tolerant to extreme conditions. It was evidenced by this study that the periphytic communities are interesting bioindicators that can complement the role of other variables that are traditionally used in the monitoring of aquatic systems.

*Keywords: environmental degradation, bioindicator microorganisms, river monitoring, water quality.*

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>9</b>
1. 1. Atividades minerárias e seus impactos.....	9
1. 2. Uso do perifíton como bioindicador de qualidade da água.....	11
<b>2. MÉTODOS.....</b>	<b>14</b>
2. 1. Áreas de estudo.....	14
2. 2. Amostragem de água (análises físicas e químicas).....	15
2. 3. Amostragem da Comunidade Perifítica.....	16
2. 4. Análises estatísticas.....	18
<b>3. RESULTADOS.....</b>	<b>20</b>
3. 1. Caracterização física e química dos ambientes com base em variáveis mais comumente avaliadas em estudos limnológicos.....	20
3. 2. Comparação entre rios com base em variáveis quantificadas in situ.....	23
3. 3. Nutrientes.....	24
3. 4. Metais.....	26
3. 5. Comunidade perifítica autotrófica.....	30
3.6. Riqueza, Diversidade e Índice de Contaminação por Metais (ICM).....	37
<b>4. DISCUSSÃO.....</b>	<b>39</b>
4. 1. Análises físicas e químicas.....	39
4. 2. Comunidades perifíticas.....	41
<b>5. CONCLUSÃO.....</b>	<b>46</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>47</b>

## 1. Introdução

### 1.1. Atividades minerárias e seus impactos

Os impactos das instalações minerárias sobre o meio ambiente são amplos, incluindo desde efeitos pontuais e diretos sobre a fauna, a flora e os recursos hídricos, até alterações na paisagem, que podem resultar em mudanças no microclima (Fernandes et al., 2016). Dentre os impactos das minerações sobre sistemas aquáticos, encontra-se a contaminação de águas superficiais e subterrâneas. Esse processo é geralmente relacionado às pilhas de estéril, à disposição de rejeito diretamente nos cursos d'água e, ainda mais impactante, aos vazamentos de rejeitos (Akcil e Koldas, 2006; Cohen, 2006; Nedved e Jansz, 2006; Gunson et al., 2012). A disposição dos rejeitos oriundos do beneficiamento de minério em barragens é uma das formas de descarte de rejeitos mais utilizadas pelas mineradoras (Azam e Li, 2010; Carmo et al., 2017), mas há muitos problemas associados à sua segurança. Esse método é responsável por 66% das falhas mundiais em barragens de rejeitos em minas (Rico et al., 2008), havendo grandes danos ambientais e sociais, uma vez que o rejeito pode conter diversos elementos tóxicos aos seres vivos (Fernandes et al., 2016; Hatje et al., 2017; Vergilio et al., 2021).

No dia 05 de novembro de 2015, foram lançados no meio ambiente cerca de 50 milhões de m<sup>3</sup> de rejeito de mineração de ferro após o rompimento da barragem de Fundão, pertencente à mineradora Samarco e localizada em Mariana/MG (IBAMA, 2015). O desastre afetou diretamente 36 municípios, sendo que aqueles localizados mais imediatamente a jusante do fluxo de lama (Bento Rodrigues e Paracatu de Baixo) foram totalmente destruídos (Santos et al., 2019). Além da destruição das cidades e morte de 19 pessoas (Fernandes et al., 2016), o uso dos recursos hídricos para geração de energia, abastecimento de água dos municípios, a pesca e agricultura foram prejudicados (ANA, 2016).

A bacia do Rio Doce possui 98% de seu território inserido no bioma da Mata Atlântica, que é um dos *hotspots* de conservação da biodiversidade devido ao seu elevado número de endemismos (Myers et al., 2000). Portanto o fluxo de lama atingiu áreas de proteção permanente, incluindo os cursos d'água que estavam

associados a elas (Carmo et. al., 2017). Atingindo primeiramente o rio Gualaxo do Norte, no qual o impacto se estendeu por 68,4 km, seguiu para o rio do Carmo (impactando um trecho de 24,7 km) e impactou, em seguida, o rio Doce (Carmo et al., 2017), uma vez que este é formado pela confluência do rio do Carmo com o rio Piranga (ANA, 2016). Assim, todo o dano ambiental foi relacionado ao carreamento de rejeitos por cerca de 663 km de extensão, até a foz do rio Doce no Oceano Atlântico (IBAMA, 2015). Após a ruptura da barragem, diversos estudos buscam identificar e quantificar os efeitos desse impacto no meio ambiente. Alguns dos estudos têm como foco a avaliação da toxicidade do rejeito.

A Companhia de Pesquisa de Recursos Minerais (CPRM) iniciou um monitoramento dessa bacia seis anos antes do rompimento da barragem e, em sua análise pós-rompimento, verificou que as concentrações de metais-traço dissolvidos arsênio (As), cromo (Cr), cobre (Cu), chumbo (Pb), zinco (Zn) e mercúrio (Hg) nas amostras de água eram similares aos valores encontrados em 2010 (CPRM, 2015). No entanto, alguns estudos identificaram o aumento de cobalto (Co), Cr, Zn, Cu, Pb, ferro (Fe), manganês (Mn) e níquel (Ni) em amostras de água e solo afetadas pelo rejeito, elementos associados a toxicidade (Queiroz et. al., 2018; Costa et.al., 2019; Vergilio et. al., 2021). O aumento observado nas concentrações destes elementos é compatível com as características do rejeito, que é ainda composto por oxihidróxidos de Fe (goethita, hematita), caulinita e quartzo (Pires et al., 2003; Queiroz et. al., 2018). É importante destacar que, embora tenham ocorrido aumentos nas concentrações, estas frequentemente não ultrapassaram os limites estabelecidos pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA, 2005; Queiroz et. al., 2018). Segura et al. (2016) também reforçam que as concentrações dos elementos potencialmente tóxicos encontrados no rejeito da barragem de Fundão estavam abaixo dos valores críticos estabelecidos pela legislação brasileira.

A literatura sobre a contaminação dos corpos d'água após o rompimento da barragem de Fundão e seus impactos sobre a biota não apresenta consenso. Paralelamente a estudos que não identificaram efeitos importantes relacionados às altas concentrações de metais-traço na água ou no solo (Cruz et al., 2020; Esteves et.al., 2020; Almeida et al., 2022), há estudos que mencionam efeitos negativos relevantes (Costa et al., 2019; Vergilio et. al., 2021). Por exemplo, foi detectado potencial citotóxico e genotóxico em células meristemáticas de *Allium cepa* tratadas

com amostras de água e solo contaminados pelo rejeito, mas sem que os fatores envolvidos fossem claramente identificados (Segura et. al., 2016).

Para a avaliação detalhada dos efeitos do rompimento de barragens e da contaminação por metais sobre os organismos são necessárias análises complexas, que exigem grande esforço para mensurar todos os danos ambientais. Uma maneira que pode ser mais sensível e mais facilmente aplicável para a detecção de impactos é a análise de componentes biológicos do ambiente. Análises biológicas nos fornecem informações importantes acerca de impactos que somente as análises pontuais das variáveis físicas e químicas não são capazes de responder (Padisák, 1993). Isso ocorre porque cada indivíduo responde a todo o conjunto de variáveis ambientais, incluindo aquelas não quantificadas. É impossível realizar um levantamento completo de todas as variáveis físicas e químicas e, assim, as comunidades biológicas representam de modo sintético, tudo o que ocorre no ambiente (Kuklina et al., 2013). A composição e estrutura das comunidades biológicas podem servir como indicadoras das condições ambientais, sendo que algumas comunidades, por serem mais sensíveis, são mais frequentemente usadas como ferramentas de avaliação da qualidade ambiental.

## **1.2. Uso do perifíton como bioindicador de qualidade da água**

Considerando que várias ações antrópicas promovem alterações ambientais, é necessário que sejam feitos o monitoramento, a avaliação e a gestão ecológica (Dale e Beyeler, 2001) para subsidiar a mitigação dos danos. As comunidades biológicas, devido à sua grande complexidade, podem ser avaliadas sob diferentes aspectos, exibindo um grande potencial como ferramenta descritora dos ecossistemas. Assim, as comunidades possuem espécies que apresentam diferentes respostas às alterações ambientais, sendo comum a dominância de espécies ou de grupos favorecidos por essas condições modificadas (Giani et al., 2005) e o decréscimo populacional ou mesmo extinção local das espécies mais sensíveis (Sabater, 2000; Kelly et al., 2019). A partir dessas respostas distintas, surgiram as bases para o estabelecimento de bioindicadores ambientais (Biggs, 1996; Çelekli et al., 2022), que se tornaram uma ferramenta muito utilizada nos programas de monitoramento ambiental (Kuklina et al., 2013).

Devido à sua natureza biológica, envolvendo processos e interações complexas com o ambiente, bioindicadores ambientais conseguem sintetizar as informações e reduzir as variáveis necessárias para descrever o ambiente, facilitando assim, a coleta de dados e a avaliação das mudanças ambientais (Suter, 2001; Cupertino et al., 2019; Gomes et al., 2021). A quantificação pontual de variáveis físicas ou das concentrações de substâncias químicas não informa seus efeitos nos organismos e muitas substâncias provocam reações biológicas em concentrações menores do que aquelas que podem ser quantificadas (Padisák, 1993). Sendo assim, é necessário correlacionar essas variáveis com as respostas da comunidade biológica para garantir uma avaliação eficiente da qualidade ambiental (Çelekli et al., 2019b).

A busca de organismos bioindicadores deve levar em consideração grupos nos quais a sua importância para o sistema trabalhado seja bem estabelecida, assim como o máximo de conhecimento biológico a seu respeito. A fração autotrófica das comunidades perifíticas, formada por algas e cianobactérias, por exemplo, desempenham importante papel ecológico em ecossistemas aquáticos, em especial nos ambientes lóticos, por atuarem como produtores primários, sendo responsáveis pela maior produção de oxigênio e base da cadeia alimentar nesse sistema (Wetzel, 1990; Villeneuve et al., 2010; Pandey et al., 2020).

Após a ruptura da barragem de Fundão, o material particulado fino dos rejeitos produziu elevada turbidez nos cursos d'água afetados, que alcançou níveis até 100 vezes superiores aos observados antes do desastre (CPRM, 2015). A elevação da turbidez interfere na entrada de luz na coluna d'água, afetando a dinâmica dos ecossistemas aquáticos e provocando queda nas concentrações de oxigênio dissolvido (CPRM, 2015; Aires et al., 2018; Vergilio et al., 2021). A dinâmica da comunidade perifítica, como demonstrado por Stevenson et al. (2008), apresenta respostas evidentes frente às alterações ambientais, permitindo o uso destes organismos para avaliar e descrever os impactos de perturbações. Assim, são consideradas muito úteis como bioindicadoras de qualidade da água (Sládecková, 1962; Biggs, 2000). Em sistemas aquáticos, mudanças nos níveis de poluição são consideradas perturbações que interferem no equilíbrio entre as espécies e podem modificar a diversidade da comunidade local (Ivorra et. al., 1999; Figueredo e Giani, 2001). Estas comunidades funcionam como um sensor das variáveis ambientais,

sintetizando e armazenando informações em escala espacial e temporal (Bellinger et al., 2006; Zizek et. al., 2011).

Considerando a necessidade de entender os impactos do rompimento da barragem de Fundão na bacia do Rio Doce, esse estudo objetivou analisar as algas e cianobactérias perifíticas como bioindicadoras da qualidade da água. O estudo, considerando ainda o papel ecológico destes organismos, objetiva detectar diferenças entre locais impactados e não impactados que possam estar relacionadas ao rompimento da barragem. Para tal, avaliamos os impactos dos rejeitos de minério nas características físicas e químicas dos rios, assim como nas comunidades perifíticas, avaliando a hipótese de que há um gradiente decrescente de concentração de elementos traço, com maiores valores no local de maior impacto refletindo em diferenças estruturais na comunidade perifítica. Tais diferenças seriam expressas pelo desaparecimento de algumas espécies e ou a prevalência de outras, também segundo o nível de impacto.

## 2. Materiais e métodos

### 2.1. Áreas de Estudo:

Os estudos foram conduzidos em três áreas localizadas na bacia hidrográfica do rio Doce, no estado de Minas Gerais (Fig. 1). Sítio 1: localizado no rio do Carmo ( $20^{\circ} 21' 26,45''$  S /  $43^{\circ} 7' 4,69''$  O), a montante da confluência com o rio Piranga, e que, portanto, não recebeu nenhuma carga de rejeitos. Assim, este sítio foi utilizado como referência para as avaliações de qualidade de água e de biodiversidade dos organismos fotossintetizantes do perifíton. Sítio 2: localizado no rio Gualaxo do Norte ( $20^{\circ} 16' 55,11''$  S /  $43^{\circ} 5' 4,88''$  O) e sendo o mais afetado pelos rejeitos devido à sua maior proximidade em relação à barragem, tendo recebido maior carga de rejeitos. Sítio 3: localizado a jusante da represa da usina hidrelétrica Risoleta Neves, no rio Doce ( $20^{\circ} 11' 39,85''$  S /  $42^{\circ} 51' 0,35''$  O), e que, por ter recebido uma menor carga de rejeitos devido à contenção pela represa (Carmo et al., 2017), foi considerado um sítio que sofreu impacto intermediário. Além dos sítios amostrados no presente estudo, utilizamos dados obtidos em quatro sítios avaliados no monitoramento realizado pelo Instituto Mineiro de Gestão das Águas (IGAM): RD009 ( $20^{\circ} 21' 0''$  S /  $43^{\circ} 19' 5,00''$  O), no rio do Carmo; RD011 ( $20^{\circ} 17' 9,81''$  S /  $43^{\circ} 3' 57,02''$  O), no rio Gualaxo do Norte; RD071 ( $20^{\circ} 16' 58,0''$  S /  $43^{\circ} 01' 56,00''$  O), no rio do Carmo próximo à sua confluência com o rio Piranga; e RD072 ( $19^{\circ} 14' 51,00''$  S /  $42^{\circ} 53' 07,00''$  O), no rio Doce. O clima das áreas estudadas é classificado como Aw sazonal tropical (Alvares et al., 2014), sendo caracterizado por altas temperaturas médias anuais, com valores altos para temperaturas mínimas e máximas na primavera e no verão, além de um regime pluvial que apresenta dois períodos bem definidos: um chuvoso, de outubro a março, e um seco, de abril a setembro (Figueredo et al., 2016). O volume pluviométrico no período chuvoso varia de 800 a 1.300 mm e no período seco de 150 a 250 mm (Tavares et al., 2007).

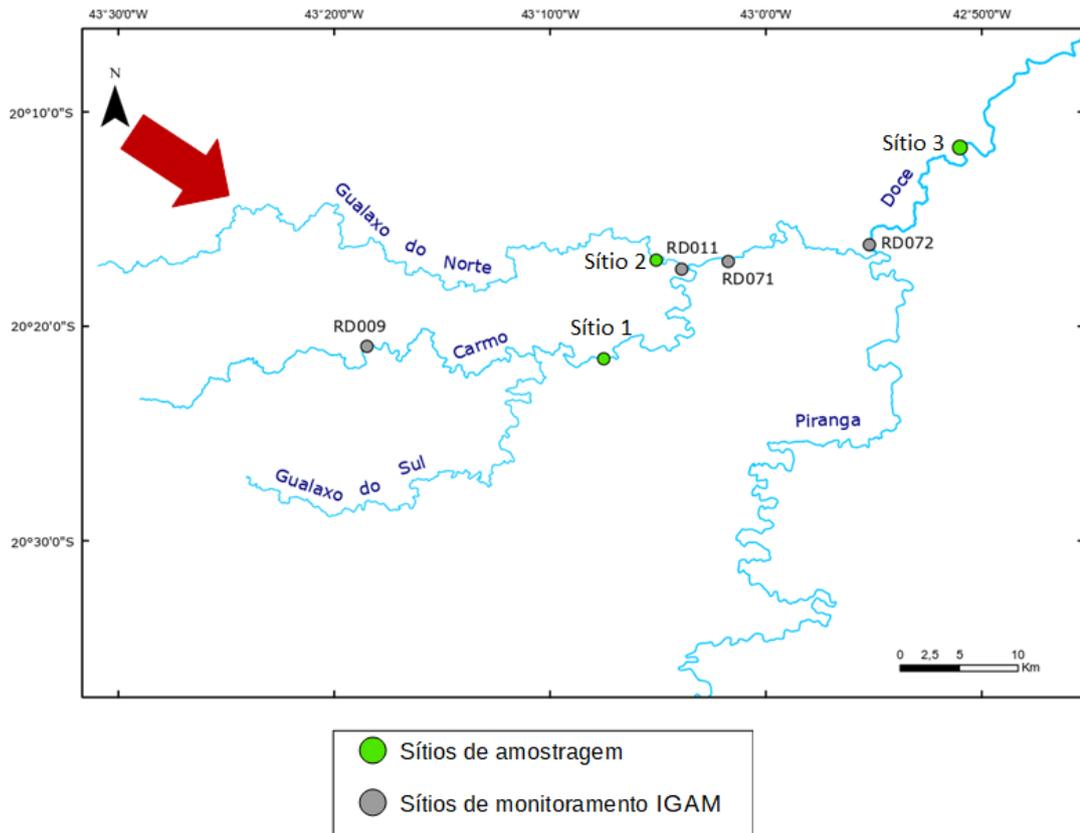


Figura 1. Mapa da região da Bacia do rio Doce afetada pelo rompimento da barragem de Fundão (localizada no ponto indicado pela seta vermelha). Pontos verdes: sítios de amostragem do presente estudo. Pontos cinza: sítios de monitoramento do IGAM. Áreas de estudo: Sítio 1 ( $20^{\circ} 21' 26,45''$  S /  $43^{\circ} 7' 4,69''$  O): rio do Carmo, área de referência; Sítio 2 ( $20^{\circ} 16' 55,11''$  S /  $43^{\circ} 5' 4, 88''$  O): rio Gualaxo do Norte, área altamente impactada; Sítio 3 ( $20^{\circ} 11' 39,85''$  S /  $42^{\circ} 51' 0,35''$  O): ponto a jusante da usina Risoleta Neves, no rio Doce, área de impacto intermediário.

## 2.2. Amostragem de água (análises físicas e químicas)

As amostragens de água foram realizadas semestralmente em novembro de 2017, junho de 2018 e janeiro e junho de 2019, correspondendo a duas amostragens em estações chuvosas e duas em estações secas (avaliação do aspecto temporal). Em cada um dos sítios de amostragem, foram estabelecidos três pontos de coleta de água, com uma distância de 50 m entre eles, de modo a melhor representar as condições médias locais (avaliação do aspecto espacial).

Utilizando uma sonda multiparâmetros (YSI-650 MDS), foram medidos, *in situ*, os valores de temperatura ( $^{\circ}$ C), pH, condutividade elétrica ( $\mu$ S/cm), sólidos dissolvidos totais (mg/L), profundidade (m) e concentração de oxigênio dissolvido (mg/L) na água de cada um dos locais de amostragem. Não foi possível quantificar essas variáveis na estação chuvosa 1, pois a sonda utilizada apresentou problemas.

As coletas de água para análises em laboratório foram feitas utilizando-se frascos de polietileno com capacidade de 5L, os quais foram completamente enchidos com água da camada subsuperficial em cada um dos 9 pontos de amostragem. Os recipientes foram acondicionados em bolsas térmicas contendo gelo até a etapa de processamento em laboratório, correspondendo à filtração das amostras em microfiltros de fibra de vidro (GF-1) seguido de fracionamento do volume filtrado em frascos com 500 mL de capacidade, os quais eram levados para congelamento até o momento de realização das análises químicas. Parte dos frascos contendo amostras congeladas foi encaminhado para o Laboratório de Geoquímica (LGqA) da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP) a fim de proceder a detecção de metais e outros compostos inorgânicos através do uso de um espectrômetro de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (Agilent). Além disso, foram ainda analisadas as concentrações dos principais nutrientes para organismos fotossintetizantes aquáticos, o que corresponde ao nitrogênio amoniacal total ( $\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$ ), nitrito + nitrato ( $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ ), fósforo total no filtrado (P-total) e fósforo solúvel reativo (PSR).

### **2.3. Amostragem da Comunidade Perifítica**

Para avaliar a estrutura da comunidade fotossintetizante do perifíton, foram coletadas dez rochas em cada sítio durante as amostragens realizadas semestralmente para água. Isto resultou em um total de 120 rochas (30 por coleta) ao longo de todo o estudo. A identificação dos tipos de rochas amostrados foi realizada por especialistas da Universidade Federal de Minas Gerais, que apontaram tratar-se de quartzo rolado (vulgarmente denominados seixos). Durante as amostragens, procurou-se obter certo grau de aleatorização na coleta das rochas para se evitar tendências quanto a maior ou menor cobertura pelo perifíton. Esse foi estabelecido obtendo-se a rocha que se encontrava a 50 cm da margem em distâncias de cerca de 30 cm à jusante em relação à última rocha coletada. Esse distanciamento foi estabelecido para que não ocorresse a amostragem de rochas sobrepostas, evitando a amostragem de biofilme epilítico contínuo e também os efeitos de sombreamento entre rochas. Apesar dessa aleatorização, havia também uma padronização quanto às características das rochas obtidas, de acordo com os

seguintes critérios: semelhança dos diâmetros das rochas e profundidade de submersão das rochas (entre 10 e 20 cm abaixo da superfície). Após a coleta acondicionou-se todas as rochas obtidas em bolsas térmicas contendo gelo, onde permaneceram até a etapa de processamento em laboratório.

O biofilme foi extraído das rochas por meio de escovação com uma escova de dente e utilizando uma quantidade máxima de 200 ml de água destilada por rocha. A amostra água contendo o perifíton era então transferida para uma proveta, sendo o volume exato quantificado. Em seguida, a amostra era transferida para um frasco de plástico e fixada com lugol acético para preservação até o momento de realização da quantificação dos organismos.

A comunidade perifítica autotrófica foi quantificada utilizando-se um microscópio invertido (Zeiss Winkel), segundo o método de Utermöhl (1958). A biomassa foi estimada a partir da multiplicação da densidade populacional de cada espécie pelo biovolume médio de suas células, obtido com base em sólidos geométricos de acordo com Rott (1981); Hillebrand (1999); Sun e Liu (2003).

A riqueza de espécies (S) foi considerada como o número total de espécies registradas em cada amostra. A diversidade (H') foi calculada pelo índice de Shannon-Wiener (Shannon & Weaver, 1949), segundo a fórmula:

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \log_2 p_i$$

S = Riqueza de espécies

$P_i$  = Proporção entre o biovolume de cada espécie e o biovolume total dos organismos fotossintetizantes na amostra. A área da superfície das rochas foi mensurada por meio do método de Kovalak (1978).

Com o objetivo de avaliar um critério adicional de bioindicação, foi aplicado um índice de contaminação por metais (ICM) desenvolvido por Fernandez et al. (2017), segundo a fórmula abaixo:

$$ICM = \frac{\sum_{i=1}^n (f_i \times A_i \times F_i)}{\sum_{i=1}^n (f_i \times F_i)}$$

$f_i$  = é a frequência média da espécie i em cada categoria.

$A_i$  = tolerância da  $i$ -ésima espécie.

$F_i$  = confiabilidade da  $i$ -ésima espécie.

O ICM é baseado exclusivamente na comunidade de diatomáceas (Filo Bacillariophyta) e é utilizado para verificar o grau de contaminação por metais em um dado ambiente. A partir desse índice, os autores definiram cinco classes de qualidade de água: classe I (não poluída) para os sistemas que tiverem o ICM entre 0 e 4,5; classe II (moderadamente poluída), com ICM entre 4,5 e 5; classe III (poluída), com ICM de 5 a 6; classe IV (altamente poluída), com ICM de 6 a 8,5 e classe V (extremamente poluída), com ICM 8,5 a 10.

#### **2.4. Análises estatísticas**

Para uma exploração ampla do conjunto de dados físicos e químicos mais comumente medidos em estudos limnológicos e utilizados para caracterizar os corpos d'água, foi realizada uma Análise de Componentes Principais (PCA), por meio do software PAST 4.03 (Hammer et al., 2001). Essa análise foi feita utilizando-se o conjunto total dos dados físicos e químicos levantados nos três sítios e em todas as coletas. Para avaliar separadamente os dados relativos às concentrações de metais na água foi realizada outra PCA.

Após a busca por tendências mais gerais a partir das PCA's realizadas para dados físicos e químicos, incluindo metais, foram usadas análises de variância (ANOVA One-Way) ou Kruskal-Wallis (JMP®, SAS Institute software) para verificar se havia diferenças significativas entre os sítios de amostragem. Nos casos em que foi detectada diferença significativa, foi aplicado o teste de Tukey para verificar quais sítios diferiam entre si. Antes das análises estatísticas, os dados foram avaliados quanto à normalidade, usando o teste de Shapiro-Wilk, e homocedasticidade, usando o Teste de Brown-Forsythe. Quando necessário, as variáveis foram transformadas  $\log_{10}(x + 1)$ .

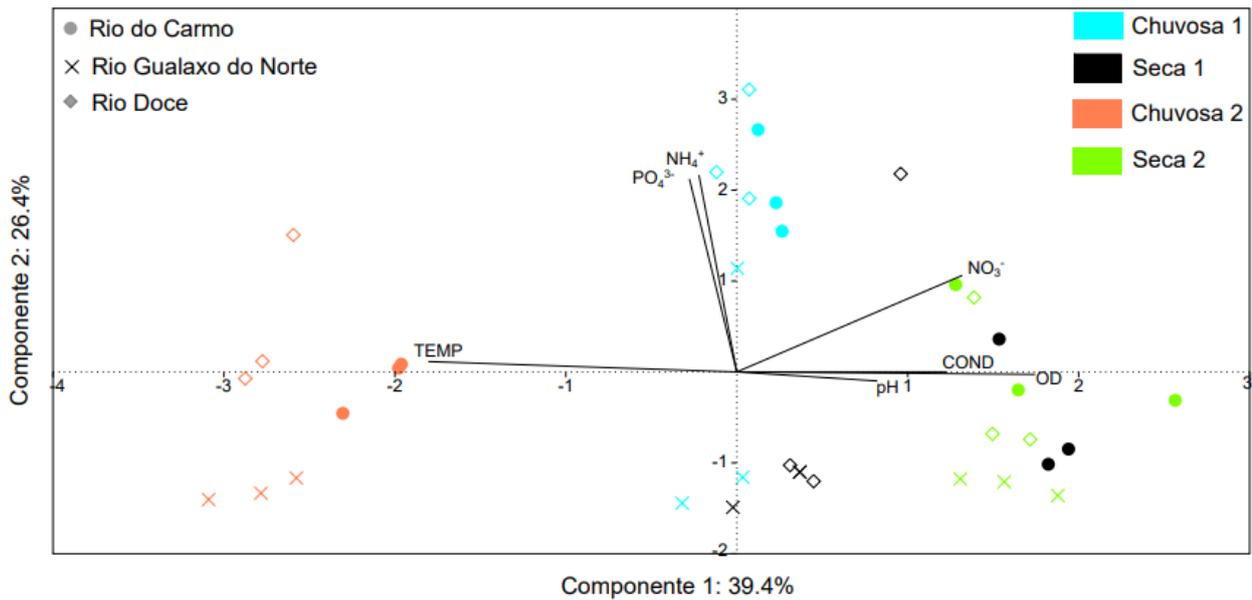
Em relação aos dados biológicos, o biovolume total por  $\text{cm}^2$  foi comparado entre os três sítios por meio de ANOVA, seguida de teste de Tukey quando houve diferenças significativas. As comunidades perifíticas foram agrupadas em uma matriz de similaridade segundo análise de Cluster baseada no índice de similaridade de Bray-Curtis e também representadas por uma análise de escalonamento

multidimensional não métrico (NMDS), com base no mesmo índice de similaridade. A fim de testar se as comunidades periféricas eram diferentes entre os sítios, foi realizada uma análise de variância multivariada por permutação (PERMANOVA). Todas essas análises da comunidade foram realizadas separadamente para cada período amostrado, utilizando o software PAST 4.03 (Hammer et al., 2001).

### **3. Resultados**

#### **3.1. Caracterização física e química dos ambientes com base em variáveis mais comumente avaliadas em estudos limnológicos**

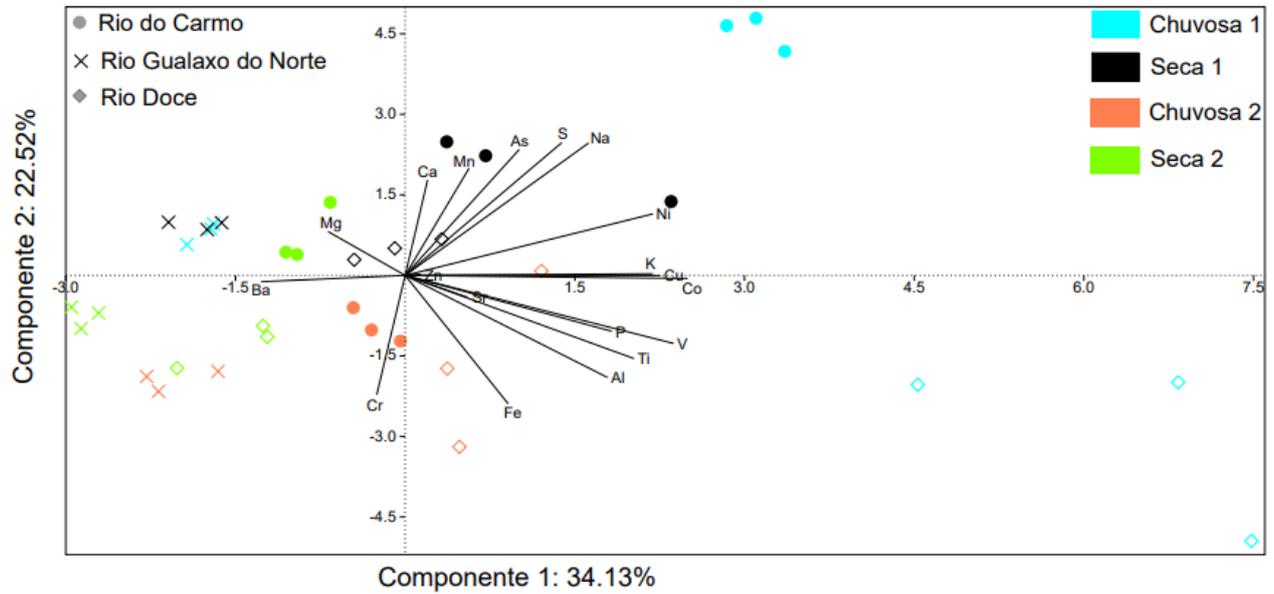
Para as análises de variáveis físicas e químicas mais tradicionalmente avaliadas em estudos limnológicos, as duas componentes principais explicaram 63,8% da variabilidade total dos dados (Fig. 2). Correspondendo a 39,4% da variabilidade total dos dados, a Componente 1 foi mais relacionada a uma separação dos pontos em relação aos períodos de amostragem e está fortemente conectada aos valores de temperatura, concentração de oxigênio dissolvido (OD) e condutividade elétrica (COND). A Componente 2 correspondeu a 26,4% da variabilidade total dos dados e evidenciou uma separação entre os rios, sendo que o rio Gualaxo do Norte está mais evidentemente separado dos demais. Essa componente foi principalmente correlacionada com nutrientes, como os íons amônio e ortofosfato.



	PC1	PC2
Amônio	-0.068	0.672
Nitrato	0.410	0.330
Ortofosfato	-0.086	0.660
Temperatura	-0.560	0.035
Condutividade elétrica	0.381	0.000
Oxigênio dissolvido	0.542	-0.008
pH	0.255	-0.030

Figura 2. Análise de Componentes Principais (PCA) para as variáveis físicas e químicas tradicionalmente avaliadas em estudos limnológicos considerando todo o conjunto de amostragens em termos temporal e espacial. Temp = temperatura, Cond = condutividade elétrica, OD = oxigênio dissolvido, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> = íon amônio, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> = nitrato e PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> = ortofostato.

A PCA referente aos metais mostrou que as duas componentes principais explicaram 56,6% da variabilidade total dos dados (Fig. 3). Para esses dados não foi observada uma separação temporal clara. Entretanto, a Componente 1, que explica 34,1% da variabilidade total dos dados, apresentou uma separação espacial evidente, na qual as amostras do rio Gualaxo do Norte formaram um agrupamento bastante distinto das demais. Para a Componente 2, que explica 22,5% dos dados, ocorreu grande sobreposição dos pontos de coleta e das estações do ano. Em relação aos metais, não foi muito evidente uma importância destacada de algum deles em caracterizar as amostras, sendo que vários contribuíram de modo relativamente importante para os dois fatores.



	PC1	PC2		PC1	PC2
<b>Ba</b>	-0.18	-0.01	<b>Na</b>	0.23	0.36
<b>Sr</b>	0.08	-0.06	<b>P</b>	0.26	-0.15
<b>Ti</b>	0.29	-0.22	<b>S</b>	0.20	0.36
<b>Al</b>	0.26	-0.27	<b>Co</b>	0.36	-0.00
<b>Fe</b>	0.13	-0.35	<b>Cr</b>	-0.03	-0.32
<b>Mn</b>	0.08	0.29	<b>Cu</b>	0.33	-0.00
<b>Ca</b>	0.02	0.26	<b>Ni</b>	0.32	0.16
<b>K</b>	0.32	0.00	<b>V</b>	0.34	-0.18
<b>Mg</b>	-0.10	0.11	<b>Zn</b>	0.02	0.00
			<b>As</b>	0.14	0.34

Figura 3. Análise de Componentes Principais (PCA) referente às concentrações de metais nos rios estudados em cada estação de coleta.

### 3.2. Comparação entre rios com base em variáveis quantificadas *in situ*

Os valores médios com desvios-padrão para cada variável quantificada *in situ* estão apresentados na tabela 1. A temperatura média dos rios diferiu significativamente entre os pontos nas estações chuvosa 2 (DF=6, F=62,8 e  $P < 0,001$ ), seca 1 (DF=6, F=387,5 e  $P < 0,001$ ) e seca 2 (DF=6,  $\chi^2=7,4$  e  $P=0,02$ ). Em todas as estações foram observados maiores valores de temperatura no rio Doce, com menores valores no rio do Carmo e valores intermediários no rio Gualaxo do Norte.

A condutividade elétrica diferiu significativamente entre os pontos de amostragem apenas na estação chuvosa 2 (DF=6, F=10,1 e  $P=0,012$ ), quando o valor foi significativamente maior no rio Doce, e na seca 1 (DF=6, F=90,2 e  $P < 0,001$ ), quando valores significativamente mais elevados foram registrados no rio do Carmo.

Quanto ao oxigênio dissolvido, não foram observadas diferenças significativas nas duas estações chuvosas. Por outro lado, as estações secas apresentaram diferenças significativas entre os pontos, com maiores concentrações no rio Doce durante a Seca 1 (DF=6, F=6,2 e  $P=0,034$ ) e no rio do Carmo na estação Seca 2 (DF=6, F=19,5 e  $P=0,002$ ). Em relação aos valores de pH, não houve diferenças significativas entre os pontos em nenhum dos períodos amostrados.

Tabela 1: Valores médios e desvios-padrão de variáveis medidas *in situ*. As letras diferentes indicam diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) entre pontos de amostragem (ANOVA). Valores significativamente maiores foram evidenciados pela cor rosa, enquanto aqueles significativamente menores foram evidenciados pela cor azul. C = Rio do Carmo; GN = Gualaxo do Norte; RD = Rio Doce.

Estações	Chuvosa 2			Seca 1			Seca 2		
	C	GN	RD	C	GN	RD	C	GN	RD
Sítios amostrais									
Temperatura (°C)	25,82 ± 0,20 <sup>A</sup>	27,54 ± 0,95 <sup>B</sup>	28,42 ± 1,02 <sup>C</sup>	20,51 ± 0,05 <sup>A</sup>	22,19 ± 0,89 <sup>B</sup>	22,55 ± 0,93 <sup>C</sup>	16,90 ± 0,10 <sup>A</sup>	17,19 ± 0,20 <sup>B</sup>	19,35 ± 0,11 <sup>C</sup>
Condutividade elétrica (µS/cm)	56,67 ± 1,15 <sup>A</sup>	55,33 ± 1,15 <sup>A</sup>	60,33 ± 0,58 <sup>B</sup>	83,67 ± 0,58 <sup>A</sup>	63,00 ± 11,85 <sup>B</sup>	62,33 ± 11,55 <sup>B</sup>	63,67 ± 4,04	65,00 ± 3,79	61,00 ± 3,46
Oxigênio dissolvido (mg/L)	7,29 ± 0,09	7,33 ± 0,10	7,38 ± 0,03	8,02 ± 0,03 <sup>A</sup>	7,99 ± 0,03 <sup>A</sup>	8,23 ± 0,03 <sup>B</sup>	8,96 ± 0,07 <sup>A</sup>	8,88 ± 0,08 <sup>A</sup>	8,72 ± 0,01 <sup>B</sup>
pH	7,52 ± 0,04	7,34 ± 0,11	7,42 ± 0,12	7,72 ± 0,04	7,94 ± 0,12	7,86 ± 0,11	7,39 ± 0,13	7,53 ± 0,10	7,75 ± 0,15

### 3.3. Nutrientes

As concentrações de nutrientes estão representadas na Figura 4. Na estação chuvosa 1, as concentrações de nitrito + nitrato foram significativamente ( $DF=6$ ,  $\chi^2=6,3$  e  $P=0,04$ ) maiores no rio do Carmo, enquanto o rio Gualaxo do Norte apresentou as menores. O rio Doce foi similar a ambos, apresentando concentração intermediária de nitrato. Essa variável não mostrou diferenças significativas entre os pontos nas outras estações climáticas. A concentração de amônia na estação chuvosa 2 diferiu significativamente ( $DF=6$ ,  $F=27,9$  e  $P < 0,001$ ) no rio Doce em relação ao Carmo e Gualaxo do Norte, que não diferiram entre si. As concentrações de ortofosfato apresentaram diferenças significativas ( $DF=6$ ,  $F=5,7$  e  $P=0,041$ ) na estação chuvosa 1, com o rio Doce apresentando os maiores valores e o rio Gualaxo do Norte apresentando os menores, ambos diferindo entre si. O rio do Carmo não foi significativamente diferente dos demais pontos de amostragem. Não ocorreram diferenças significativas nas concentrações de ortofosfato nas outras estações amostradas. Embora as menores concentrações médias de nutrientes foram quase sempre observadas no rio Gualaxo do Norte, não há um padrão claro porque diferenças significativas não foram comumente observadas.

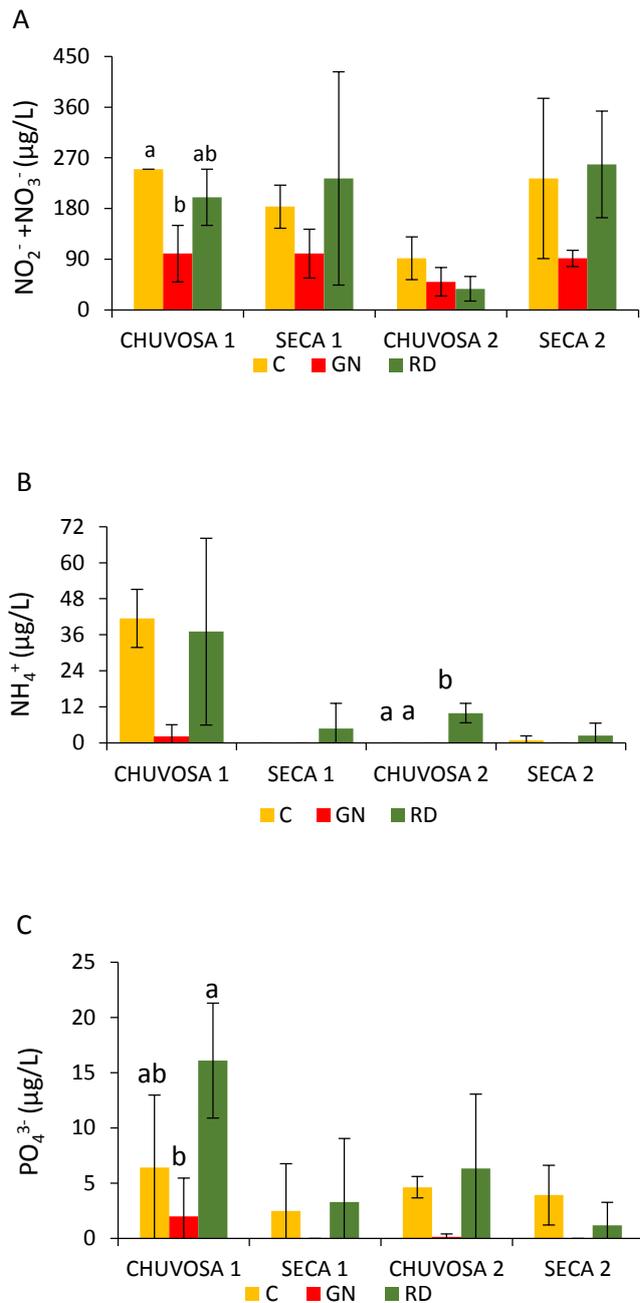


Figura 4: Variação média de nutrientes com desvio-padrão em cada estação. Nitrato (fig. A), Amônia (fig. B) e Ortofosfato (fig. C). Carmo (C), Gualaxo do Norte (GN) e Rio Doce (RD). Diferenças significativas ( $P < 0,05$ ), (kruskal-Wallis para nitrato na chuva 1 e para ortofosfato chuva 2, ANOVA para as demais análises) entre os pontos são indicadas por letras diferentes acima das colunas.

### 3.4 - Metais

Os dados de monitoramento do IGAM na bacia do rio Doce permitiram comparar as concentrações de metais em anos anteriores (2012-2015) e posteriores (2016-2018) ao rompimento da barragem. Os dados referentes às concentrações de metais estão apresentados na tabela 2. À exceção do mercúrio (Hg), caracterizado por valores similares tanto em termos temporais quanto espaciais, outros metais relevantes (tais como: alumínio, ferro, magnésio e manganês) apresentaram diferenças temporais, com os maiores valores sendo observado entre 2016 e 2018. As menores concentrações desses elementos foram observadas no período entre 2012 e 2015. No entanto, as maiores concentrações de Al e Fe no sítio RD072 ocorreram em 2013, sendo que a maior concentração de Mn no sítio RD071 foi observada em 2012.

Análises das concentrações de metais também foram realizadas nos pontos de amostragem estabelecidos no presente estudo (Tabela 3). Apenas o Al no rio Doce e o Mn no rio do Carmo, na estação chuvosa 1, excederam os limites (de 100 µg/L para ambos) estabelecidos para águas de Classe 2 da Resolução CONAMA (357/2005). Nessa data de amostragem, a concentração média de Al foi 214,16 (µg/L) e a de Mn foi 137,87 (µg/L). Os demais elementos não excederam os valores estabelecidos pela resolução em nenhuma das coletas. Os elementos que apresentaram valores significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ,  $DF=6$ ) entre os pontos na estação chuvosa 1 foram: estrôncio ( $F=12,8$ ;  $P=0,006$ ;  $C=RD > GN$ ), titânio ( $F=6,5$ ;  $P=0,031$ ;  $RD > C=GN$ ), cálcio ( $F=7,6$ ;  $P=0,022$ ;  $C > RD$   $GN=C$ ;  $GN=RD$ ), potássio ( $F=18,2$ ;  $P=0,002$ ;  $RD > C=GN$ ), magnésio ( $F=155,1$ ;  $P < 0,001$ ;  $GN > C > RD$ ), sódio ( $F=147,4$ ;  $P < 0,001$ ;  $C > GN=RD$ ), bário ( $F=8,5$ ;  $P=0,017$ ;  $GN > C=RD$ ), alumínio ( $\chi^2=7,6$ ;  $P=0,02$ ;  $RD > C=GN$ ), manganês ( $F=272,7$ ;  $P < 0,001$ ;  $C > GN=RD$ ), enxofre ( $F=193,0$ ;  $P < 0,001$ ;  $C > GN=RD$ ), cobalto ( $F=21,6$ ;  $P=0,001$ ;  $C=RD > GN$ ), cobre ( $\chi^2=7,4$ ;  $P=0,02$ ;  $RD > C > GN$ ) cromo ( $F=6,2$ ;  $P=0,034$ ;  $RD > C=GN$ ), níquel ( $F=9,5$ ;  $P=0,013$ ;  $C=RD > GN$ ), vanádio ( $F=26,6$ ;  $P=0,001$ ;  $RD > C=GN$ ) e arsênio ( $F=1219,4$ ;  $P < 0,001$ ;  $C > GN=RD$ ). Os maiores valores foram registrados principalmente no rio Doce e do Carmo e os menores valores em sua maioria encontrados no rio Gualaxo

do Norte. Na estação chuvosa 2 houve diferenças significativas entre os pontos para os elementos: potássio ( $F=8,3$ ;  $P=0,018$ ;  $RD>C=GN$ ), enxofre ( $F=29,1$ ;  $P<0,001$ ;  $C>GN=RD$ ), cobre ( $F=18,3$ ;  $P=0,031$ ;  $RD>C=GN$ ), níquel ( $F=62,8$ ;  $P<0,001$ ;  $C>RD>GN$ ), vanádio ( $\chi^2=7,2$ ;  $P=0,02$ ;  $RD>C=GN$ ) e arsênio ( $F=1097,3$ ;  $P<0,001$ ;  $C>GN=RD$ ). O rio Gualaxo do Norte apresentou menores concentrações para todos os elementos que diferiram significativamente. Os rios do Carmo e Doce alternaram entre o intermediário e maior valor. Na seca 1 os elementos que diferiram significativamente entre os pontos foram: estrôncio ( $F=52,1$ ;  $P<0,001$ ;  $RD>C=GN$ ), cálcio ( $F=566,4$ ;  $P<0,001$ ;  $GN>C=RD$ ), potássio ( $F=3017,0$ ;  $P<0,001$ ;  $RD>C>GN$ ), magnésio ( $F=597,3$ ;  $P<0,001$ ;  $GN>C=RD$ ), sódio ( $F=143,9$ ;  $P<0,001$ ;  $C>RD>GN$ ), bário ( $F=7,9$ ;  $P=0,02$ ;  $GN>C$ ;  $RD=GN$ ;  $C=RD$ ), manganês ( $F=7,8$ ;  $P=0,02$ ;  $GN>RD$ ;  $C=GN$ ;  $C=RD$ ), enxofre ( $F=305,7$ ;  $P<0,001$ ;  $C>GN=RD$ ), cobalto ( $F=7,3$ ;  $P=0,024$ ;  $RD>GN$ ;  $C=RD$ ;  $C=GN$ ), cobre ( $F=4,9$ ;  $P=0,049$ ;  $C>GN$ ;  $GN=RD$ ;  $C=RD$ ), vanádio ( $F=60,1$ ;  $P<0,001$ ;  $RD>C=RD$ ) e arsênio ( $F=546,2$ ;  $P<0,001$ ;  $C>GN=RD$ ). O rio Gualaxo do Norte, na estação seca 1, apresentou as maiores concentrações de Ca, Mn, Mg e Ba e as menores de K, Na, S, Co e Cu. Os rios do Carmo e Doce apresentaram concentrações maiores ou intermediárias para a maioria dos elementos. Na estação seca 2 os elementos que diferiram significativamente entre os pontos foram: potássio ( $F=12,7$ ;  $P=0,006$ ;  $RD>GN$ ,  $C=RD$ ;  $C=GN$ ), magnésio ( $F=5,7$ ;  $P=0,041$ ;  $RD>GN$ ;  $C=RD$ ;  $C=GN$ ), sódio ( $F=8,2$ ;  $P=0,01$ ;  $C>GN$ ;  $RD=GN$ ;  $RD=C$ ), manganês ( $F=9,3$ ;  $P=0,01$ ;  $C>RD$ ;  $GN=C$ ;  $GN=RD$ ), enxofre ( $F=12,5$ ;  $P=0,007$ ;  $C>GN=RD$ ), cobalto ( $F=18,1$ ;  $P=0,002$ ;  $C>GN$ ;  $C=RD$ ), cromo ( $F=9,7$ ;  $P=0,013$ ;  $C>GN$ ;  $RD=C$ ;  $RD=GN$ ), cobre ( $F=13,5$ ;  $P=0,006$ ;  $C>GN$ ;  $C=RD$ ), níquel ( $F=60,1$ ;  $P<0,001$ ;  $C>GN=RD$ ), vanádio ( $F=5,1$ ;  $P=0,05$ ;  $RD>GN$ ;  $C=GN$ ;  $C=RD$ ), zinco ( $F=5,6$ ;  $P=0,04$ ;  $C>RD$ ;  $GN=C$ ;  $GN=RD$ ) e arsênio ( $F=101,5$ ;  $P<0,001$ ;  $C>GN=RD$ ). À exceção dos elementos Mg e Cr, para os quais apresentou os maiores valores, o rio Gualaxo do Norte exibiu menores valores para todos os outros elementos citados acima. O rio do Carmo apresentou maiores concentrações para a maioria dos elementos.

Tabela 2. Concentrações médias ( $\pm$  desvio-padrão) de metais nos pontos de monitoramento do IGAM.

	2012		2013			2014			2015			2016			2017		
	RD 009	RD 071	RD 072	RD 009	RD 011	RD 071	RD 072	RD 009									
Alumínio dissolvido	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,05 $\pm$ 0,10	0,12 $\pm$ 0,06	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,05 $\pm$ 0,07	0,0 $\pm$ 0,05	0,0 $\pm$ 0,08	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,07 $\pm$ 0,03
Ferro	0,09 $\pm$ 0,02	0,10 $\pm$ 0,20	0,14 $\pm$ 0,04	0,12 $\pm$ 0,02	0,20 $\pm$ 0,07	0,29 $\pm$ 0,07	0,10 $\pm$ 0,07	0,08 $\pm$ 0,02	0,12 $\pm$ 0,02	0,12 $\pm$ 0,05	0,13 $\pm$ 0,09	0,17 $\pm$ 0,21	0,16 $\pm$ 0,03	0,15 $\pm$ 0,07	0,15 $\pm$ 0,00	0,23 $\pm$ 0,04	0,19 $\pm$ 0,04
Magnésio	1,85 $\pm$ 1,62	0,95 $\pm$ 0,49	0,70 $\pm$ 0,56	3,50 $\pm$ 1,41	2,10 $\pm$ 0,70	0,45 $\pm$ 0,21	3,55 $\pm$ 0,91	1,90 $\pm$ 0,14	1,85 $\pm$ 0,49	0,13 $\pm$ 0,14	2,05 $\pm$ 0,07	1,95 $\pm$ 0,07	3,45 $\pm$ 1,20		2,10 $\pm$ 0,00	2,40 $\pm$ 0,70	4,7 $\pm$ 0,14
Manganês total	0,98 $\pm$ 0,24	0,47 $\pm$ 0,73	0,14 $\pm$ 0,20	1,0 $\pm$ 0,45	0,39 $\pm$ 0,68	0,12 $\pm$ 0,71	1,5 $\pm$ 0,26	0,06 $\pm$ 0,12	0,06 $\pm$ 0,01	0,58 $\pm$ 0,03	0,05 $\pm$ 0,07	0,05 $\pm$ 0,03	0,88 $\pm$ 0,79	0,54 $\pm$ 0,65	0,30 $\pm$ 0,52	0,13 $\pm$ 1,31	1,02 $\pm$ 1,2
Mercurio total	0,2 $\pm$ 0,0	0,2 $\pm$ 0,04	0,2 $\pm$ 0,0														

\* Os elementos cádmio e cobre nunca exibiram concentrações médias acima de zero.

Tabela 3: Concentrações de elementos químicos encontrados em cada ponto de coleta para as estações chuvosas. Valores de referência usados como parâmetro foram obtidos da resolução CONAMA (357/2005). As letras diferentes indicam diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) entre os pontos após a realização das análises estatísticas (ANOVA ou Kruskal-Wallis). Valores significativamente maiores foram evidenciados pela cor rosa, enquanto aqueles significativamente menores foram evidenciados pela cor azul.

Elementos Químicos	Parâmetro CONAMA	Chuvosa 1			Chuvosa 2		
		C	GN	RD	C	GN	RD
Sr (µg/L)	-	18,56 ± 0,34 <sup>A</sup>	11,44 ± 1,52 <sup>B</sup>	18,04 ± 2,93 <sup>A</sup>	16,66 ± 1,06	16,01 ± 1,69	34,53 ± 17,50
Ti (µg/L)	-	ND <sup>A</sup>	ND <sup>A</sup>	15,26 ± 10,40 <sup>B</sup>	ND	ND	ND
Ca (mg/L)	-	4,13 ± 0,10 <sup>A</sup>	3,92 ± 92 <sup>AB</sup>	2,91 ± 0,07 <sup>B</sup>	2,66 ± 0,12	2,40 ± 0,38	4,53 ± 2,67
K (mg/L)	-	1,62 ± 0,01 <sup>A</sup>	1,1 ± 0,04 <sup>A</sup>	3,18 ± 0,75 <sup>B</sup>	0,31 ± 0,03 <sup>A</sup>	0,25 ± 0,02 <sup>A</sup>	1,66 ± 0,83 <sup>B</sup>
Mg (mg/L)	-	1,89 ± 0,02 <sup>A</sup>	3,02 ± 0,13 <sup>B</sup>	1,53 ± 0,13 <sup>C</sup>	1,23 ± 0,02	1,59 ± 0,01	1,93 ± 1,00
Na (mg/L)	-	18,79 ± 0,13 <sup>A</sup>	2,70 ± 3,61 <sup>B</sup>	5,57 ± 2,11 <sup>B</sup>	2,65 ± 0,01	2,14 ± 0,04	3,00 ± 1,60
Ba (µg/L)	700 (µg/L)	12,30 ± 0,46 <sup>A</sup>	19,08 ± 0,15 <sup>B</sup>	12,60 ± 1,53 <sup>A</sup>	14,54 ± 5,03	22,03 ± 2,90	51,00 ± 28,11
Al (µg/L)	100 (µg/L)	ND <sup>A</sup>	ND <sup>A</sup>	214,16 ± 180,21 <sup>B</sup>	14,05 ± 13,30	ND	30,24 ± 6,44
Fe (µg/L)	300 (µg/L)	3,43 ± 5,94	ND	208,78 ± 152,71	27,28 ± 10,53	40,68 ± 0,68	51,40 ± 10,21
Mn (µg/L)	100 (µg/L)	137,87 ± 13,81 <sup>A</sup>	3,01 ± 0,72 <sup>B</sup>	3,90 ± 1,15 <sup>B</sup>	11,14 ± 4,01	1,17 ± 2,03	47,62 ± 43,69
P (mg/L)	0,1 (mg/L)	0,00	0,00	0,05 ± 0,05	0,00	0,00	0,00
S (mg/L)	83,33 (mg/L)	9,59 ± 0,09 <sup>A</sup>	1,05 ± 0,05 <sup>B</sup>	1,77 ± 1,02 <sup>B</sup>	1,37 ± 0,03 <sup>A</sup>	0,65 ± 0,01 <sup>B</sup>	0,76 ± 0,21 <sup>B</sup>
Co (µg/L)	50 (µg/L)	0,15 ± 0,01 <sup>A</sup>	0,04 ± 0,07 <sup>B</sup>	00,22 ± 0,06 <sup>A</sup>	0,05 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,09 ± 0,02
Cr (µg/L)	50 (µg/L)	0,01 ± 0,02 <sup>AB</sup>	ND <sup>A</sup>	0,18 ± 0,12 <sup>B</sup>	0,32 ± 0,01	0,26 ± 0,03	0,43 ± 0,26
Cu (µg/L)	9 (µg/L)	1,01 ± 0,12 <sup>A</sup>	ND <sup>B</sup>	1,93 ± 0,43 <sup>C</sup>	0,45 ± 0,04 <sup>A</sup>	0,32 ± 0,04 <sup>A</sup>	1,00 ± 0,21 <sup>B</sup>
Ni (µg/L)	25 (µg/L)	0,64 ± 0,03 <sup>A</sup>	0,20 ± 0,03 <sup>B</sup>	0,71 ± 0,27 <sup>A</sup>	0,30 ± 0,03 <sup>A</sup>	0,07 ± 0,03 <sup>B</sup>	0,17 ± 0,01 <sup>C</sup>
V (µg/L)	100 (µg/L)	0,33 ± 0,00 <sup>A</sup>	0,10 ± 0,00 <sup>A</sup>	1,41 ± 0,41 <sup>B</sup>	0,17 ± 0,01 <sup>A</sup>	0,08 ± 0,03 <sup>A</sup>	0,40 ± 0,08 <sup>B</sup>
Zn (µg/L)	180 (µg/L)	1,03 ± 1,55	0,15 ± 0,26	0,85 ± 1,08	4,81 ± 0,35	1,93 ± 1,55	6,10 ± 1,48
As (µg/L)	10 (µg/L)	6,04 ± 0,06 <sup>A</sup>	0,27 ± 0,01 <sup>B</sup>	0,45 ± 0,27 <sup>B</sup>	1,47 ± 0,01 <sup>A</sup>	0,18 ± 0,04 <sup>B</sup>	0,22 ± 0,05 <sup>B</sup>

Tabela 3 (continuação)

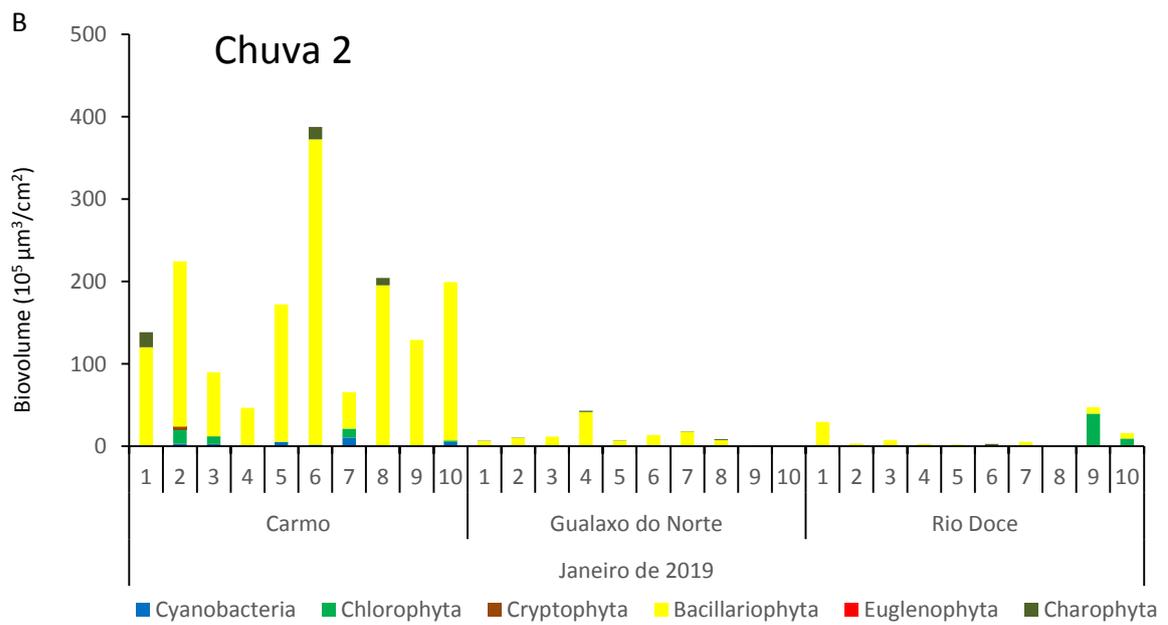
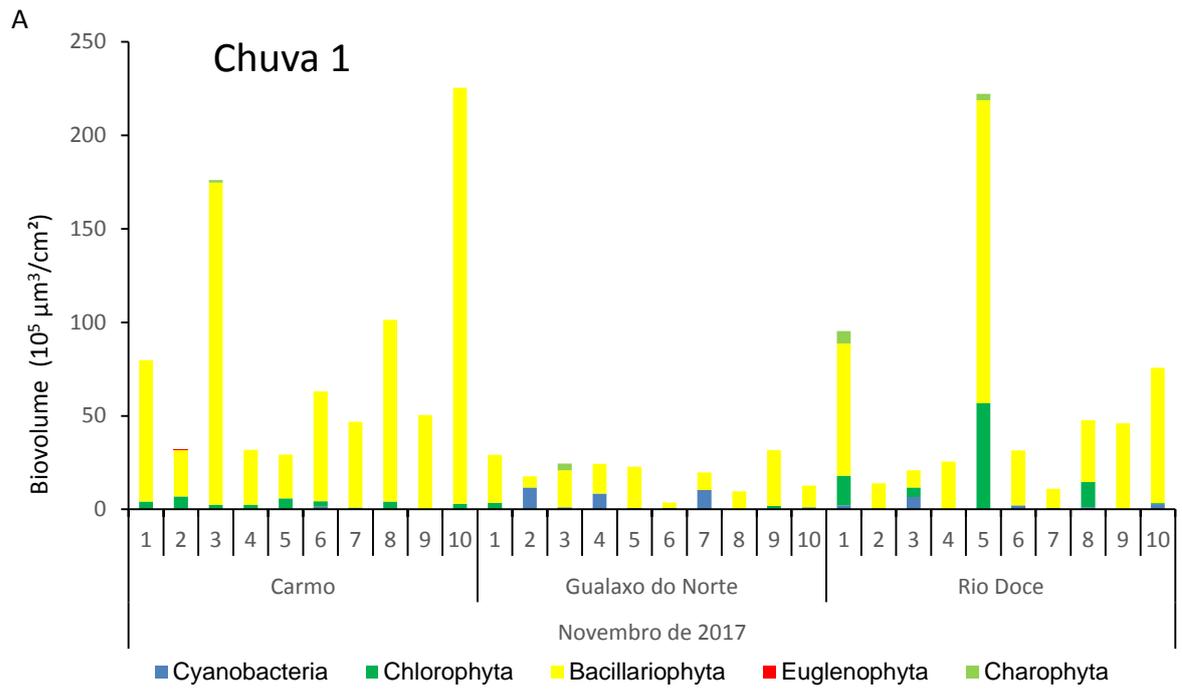
Elementos Químicos	Parâmetro CONAMA	Seca 1			Seca 2		
		Carmo	Gualaxo do Norte	Rio Doce	Carmo	Gualaxo do Norte	Rio Doce
Sr (µg/L)	-	12,66 ± 0,64 <sup>A</sup>	13,78 ± 0,15 <sup>A</sup>	19,60 ± 1,40 <sup>B</sup>	20,39 ± 5,51	14,90 ± 1,46	21,52 ± 2,8
Ti (µg/L)	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ca (mg/L)	-	3,19 ± 0,11 <sup>A</sup>	4,20 ± 0,02 <sup>B</sup>	3,32 ± 0,04 <sup>A</sup>	3,51 ± 0,98	3,16 ± 0,52	2,81 ± 0,16
K (mg/L)	-	0,66 ± 0,01 <sup>A</sup>	0,53 ± 0,01 <sup>B</sup>	1,33 ± 0,02 <sup>C</sup>	0,36 ± 0,17 <sup>AB</sup>	0,07 ± 0,12 <sup>A</sup>	0,58 ± 0,03 <sup>B</sup>
Mg (mg/L)	-	1,29 ± 0,01 <sup>A</sup>	2,07 ± 0,02 <sup>B</sup>	1,23 ± 0,05 <sup>A</sup>	1,82 ± 0,58 <sup>AB</sup>	2,42 ± 0,32 <sup>A</sup>	1,33 ± 0,16 <sup>B</sup>
Na (mg/L)	-	9,16 ± 0,11 <sup>A</sup>	3,28 ± 0,11 <sup>B</sup>	4,57 ± 0,76 <sup>C</sup>	5,00 ± 1,55 <sup>A</sup>	1,86 ± 0,28 <sup>B</sup>	2,74 ± 0,60 <sup>AB</sup>
Ba (µg/L)	700 (µg/L)	23,29 ± 2,62 <sup>A</sup>	47,76 ± 9,90 <sup>B</sup>	29,99 ± 8,84 <sup>AB</sup>	29,12 ± 8,80	29,98 ± 7,32	25,83 ± 2,82
Al (µg/L)	100 (µg/L)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fe (µg/L)	300 (µg/L)	4,21 ± 7,29	0,00	0,00	20,14 ± 12,05	8,23 ± 2,75	26,07 ± 5,55
Mn (µg/L)	100 (µg/L)	11,08 ± 2,42 <sup>AB</sup>	15,80 ± 1,17 <sup>B</sup>	6,84 ± 3,98 <sup>A</sup>	29,55 ± 9,35 <sup>A</sup>	14,98 ± 3,42 <sup>AB</sup>	8,67 ± 3,49 <sup>B</sup>
P (mg/L)	0,1 (mg/L)	0,02 ± 0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S (mg/L)	83,33 (mg/L)	3,35 ± 0,03 <sup>A</sup>	0,67 ± 0,01 <sup>B</sup>	0,88 ± 0,25 <sup>B</sup>	1,86 ± 0,54 <sup>A</sup>	0,81 ± 0,10 <sup>B</sup>	0,55 ± 0,20 <sup>B</sup>
Co (µg/L)	50 (µg/L)	0,05 ± 0,01 <sup>AB</sup>	0,04 ± 0,00 <sup>A</sup>	0,06 ± 0,01 <sup>B</sup>	0,05 ± 0,00 <sup>A</sup>	0,03 ± 0,00 <sup>B</sup>	0,04 ± 0,01 <sup>A</sup>
Cr (µg/L)	50 (µg/L)	0,08 ± 0,03	0,06 ± 0,02	0,03 ± 0,01	0,24 ± 0,01 <sup>AB</sup>	0,28 ± 0,01 <sup>A</sup>	0,21 ± 0,03 <sup>B</sup>
Cu (µg/L)	9 (µg/L)	1,72 ± 0,85 <sup>A</sup>	0,35 ± 0,32 <sup>B</sup>	0,94 ± 0,22 <sup>AB</sup>	0,29 ± 0,01 <sup>A</sup>	0,06 ± 0,01 <sup>B</sup>	0,33 ± 0,11 <sup>A</sup>
Ni (µg/L)	25 (µg/L)	0,63 ± 0,23	0,31 ± 0,07	0,37 ± 0,15	0,13 ± 0,01 <sup>A</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>B</sup>	0,01 ± 0,02 <sup>B</sup>
V (µg/L)	100 (µg/L)	0,12 ± 0,01 <sup>A</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>A</sup>	0,24 ± 0,08 <sup>B</sup>	0,11 ± 0,01 <sup>AB</sup>	0,03 ± 0,00 <sup>A</sup>	0,17 ± 0,09 <sup>B</sup>
Zn (µg/L)	180 (µg/L)	6,36 ± 1,28	1,71 ± 2,96	2,75 ± 4,77	2,66 ± 1,60 <sup>A</sup>	0,88 ± 0,27 <sup>AB</sup>	0,14 ± 0,25 <sup>B</sup>
As (µg/L)	10 (µg/L)	2,95 ± 0,09 <sup>A</sup>	0,15 ± 0,02 <sup>B</sup>	0,41 ± 0,18 <sup>B</sup>	2,61 ± 0,14 <sup>A</sup>	0,12 ± 0,01 <sup>B</sup>	0,41 ± 0,31 <sup>B</sup>

### 3.5. Comunidade perifítica autotrófica

Considerando todo o conjunto de amostras, foram observadas e identificadas 76 espécies de algas e cianobactérias no perifíton. Nem todas as espécies ocorreram nos 3 sítios amostrados, sendo que tais particularidades foram evidentes até mesmo em relação a grupos taxonômicos maiores (Figura 5). Nas estações

chuvosas, o rio do Carmo apresentou maior biovolume em relação aos rios Gualaxo do Norte e Doce. Na estação chuvosa 1, o biovolume total do perifíton diferiu significativamente ( $DF=27$ ,  $F=7,8$ ;  $P=0,002$ ) entre os rios do Carmo e Gualaxo do Norte, com o rio Doce não diferindo de ambos. Entretanto, houve diferença em termos de estrutura da comunidade, com o rio do Carmo apresentando uma dominância do filo Bacillariophyta e o rio Doce com dominância deste filo, mas com grande importância de Chlorophyta também. O biovolume total do perifíton estação chuvosa 2 também diferiu significativamente ( $DF=27$ ,  $F=22,0$ ;  $P<0,001$ ) entre os sítios, com o rio do Carmo apresentando valores maiores do que aqueles registrados nos rios Gualaxo do Norte e Doce, sendo que estes não foram diferentes entre si (Fig. 5A e B).

Os três sítios foram significativamente diferentes ( $DF=27$ ,  $F=13,7$ ;  $P<0,001$ ) em relação ao biovolume total do perifíton na estação seca 1. Não foram observadas diferenças significativas ( $DF=27$ ,  $F=0,1$ ;  $P=0,8$ ) entre os sítios na estação seca 2. O rio do Carmo apresentou valores de biovolume similares nas duas estações secas, com predomínio de Bacillariophyta e Chlorophyta. Entretanto, o rio Gualaxo do Norte apresentou um biovolume similar aos observados nos outros sítios, sobressaindo os grupos Bacillariophyta, Chlorophyta e Charophyta. No rio Doce, o biovolume total do perifíton autotrófico foi similar entre as duas estações secas, porém houve diferenças em sua composição, uma vez que a representatividade de Cyanobacteria foi maior na seca 1 do que na seca 2 (Fig. 5C e D).



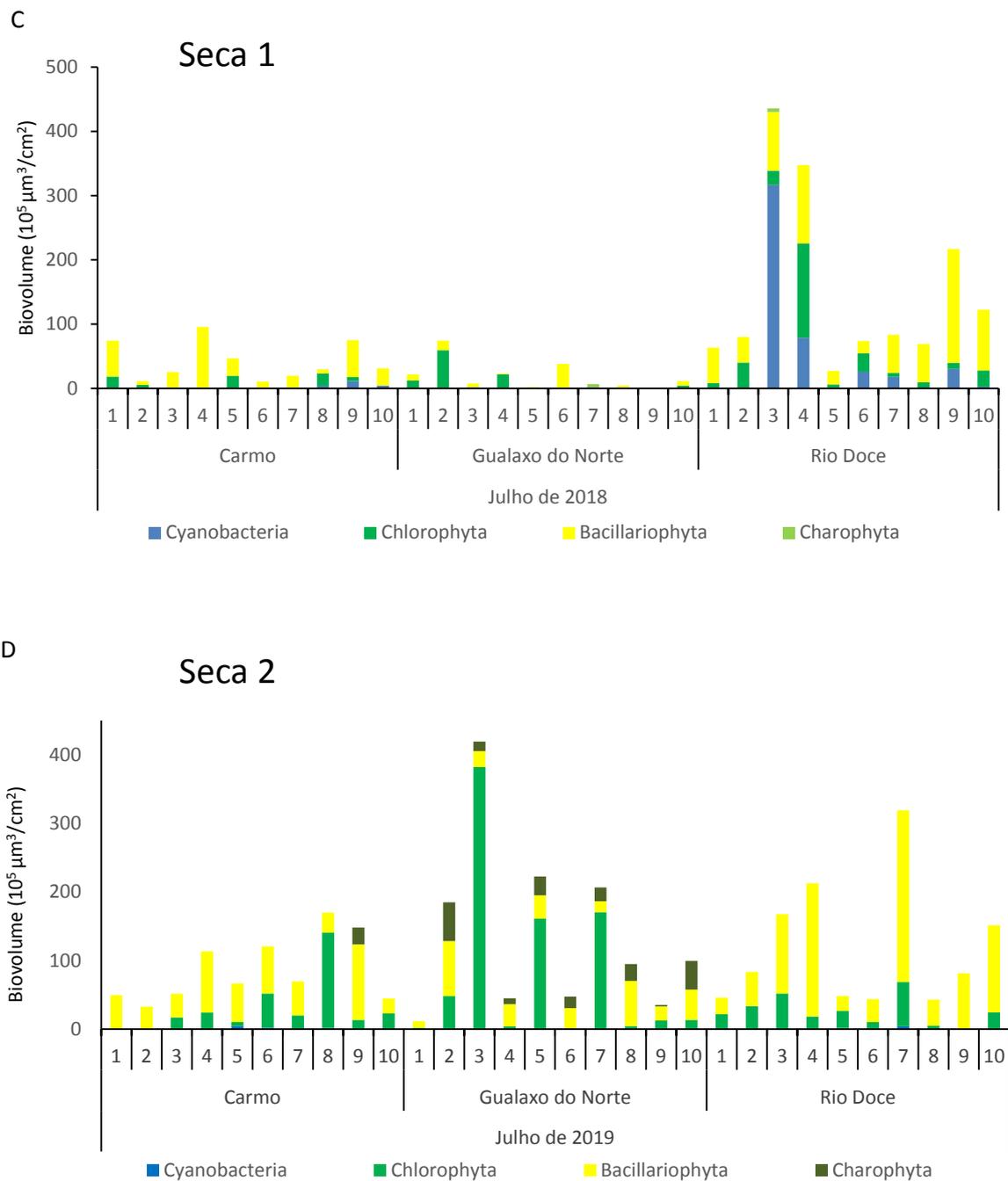


Figura 5: Gráficos de biovolume representando a estrutura das comunidades perifíticas. 5A estação chuvosa 1. 5B estação chuvosa 2. 5C estação seca 1. 5D estação seca 2. Barras coloridas representam os grupos taxonômicos encontrados.

A análise de Cluster, baseada no índice de similaridade de Bray-Curtis, mostrou que ocorreu uma separação entre os rios do Carmo, Gualaxo do Norte e rio Doce nas estações chuvosas (Fig. 6 A e B). Como complemento a essa análise de similaridade, a NMDS (Fig. 6 C e D), representando o agrupamento das comunidades de cada ponto amostral em um espaço bidimensional,

evidenciou a separação dessas comunidades entre os pontos. As sobreposições no espaço bidimensional podem não evidenciar similaridade entre os pontos de amostragem e a PERMANOVA permitiu identificar agrupamentos significativamente distintos. Na estação chuvosa 1, por exemplo, a NMDS (Fig.6 C) mostrou que houve uma sobreposição parcial dos pontos referentes às comunidades dos rios do Carmo e Doce, sendo rio Gualaxo do Norte mais evidentemente distinto dos demais. A PERMANOVA mostrou que houve diferenças significativas entre as comunidades dos três pontos amostrados. O rio Gualaxo do Norte difere do rio do Carmo ( $P < 0,001$ ) e do rio Doce ( $P < 0,001$ ), assim como, o rio do Carmo difere do rio Doce ( $P < 0,001$ ). Na estação chuvosa 2 foi observada, por meio da NMDS (Fig.6 D), uma sobreposição quase total entre as comunidades do Rio Doce com as do rio do Carmo. Entretanto, o resultado da PERMANOVA apontou diferenças significativas entre as comunidades de cada sítio, com o rio Gualaxo do Norte diferindo do rio do Carmo ( $P = 0,002$ ) e do rio Doce ( $P < 0,001$ ) e o rio do Carmo diferindo também do rio Doce ( $P < 0,001$ ).

Pela análise da matriz de similaridade de Bray-Curtis (Fig. 7 A) referente aos dados obtidos na seca 1, foi possível notar que a maior parte das rochas coletadas no rio Gualaxo do Norte possuíam comunidades similares às aquelas observadas no rio do Carmo. Algumas rochas do rio Gualaxo do Norte formaram um agrupamento com outras provenientes do rio Doce. Por outro lado, os dados do perifíton do rio Doce e rio do Carmo resultaram em agrupamentos completamente separados. A NMDS reforçou essa tendência (Fig. 8C) e essa classificação foi confirmada pela PERMANOVA, que mostrou os rios do Carmo e Gualaxo do Norte sem diferenças entre si ( $P = 0,305$ ), mas diferindo do Rio Doce ( $P < 0,001$ ). Para a estação seca 2 observou-se uma separação clara entre as comunidades nos três pontos tanto pela matriz de Bray-Curtis quanto pela NMDS (Fig. 7 B e D). A PERMANOVA confirmou que houve diferenças significativas entre o rio do Carmo e o rio Gualaxo do Norte ( $P < 0,001$ ), entre o rio do Carmo e o rio Doce ( $P < 0,001$ ) e entre o rio Gualaxo do Norte e o rio Doce ( $P < 0,001$ ).

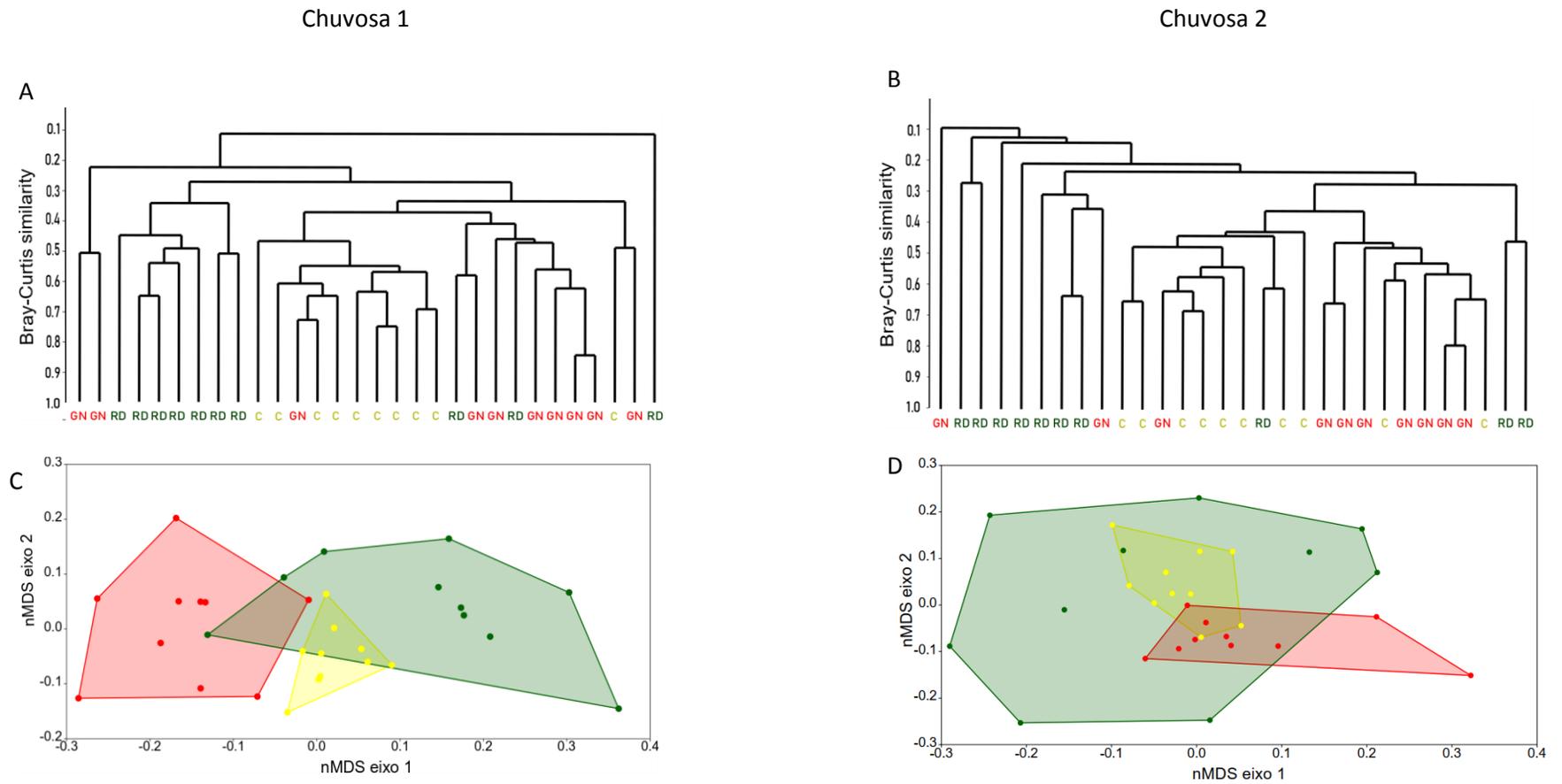


Figura 6. Dendrogramas de agrupamento hierárquico (A e B) e ordenação NMDS da similaridade na composição da comunidade (C e D) para as amostragens Chuvosa 1 e Chuvosa 2. O agrupamento é baseado na ligação da média do grupo a partir da similaridade de Bray-Curtis. As cores diferenciam os pontos de amostragem, sendo as amostras do rio Gualaxo do Norte representadas em vermelho, as do Rio Doce em verde e as do rio do Carmo em amarelo.

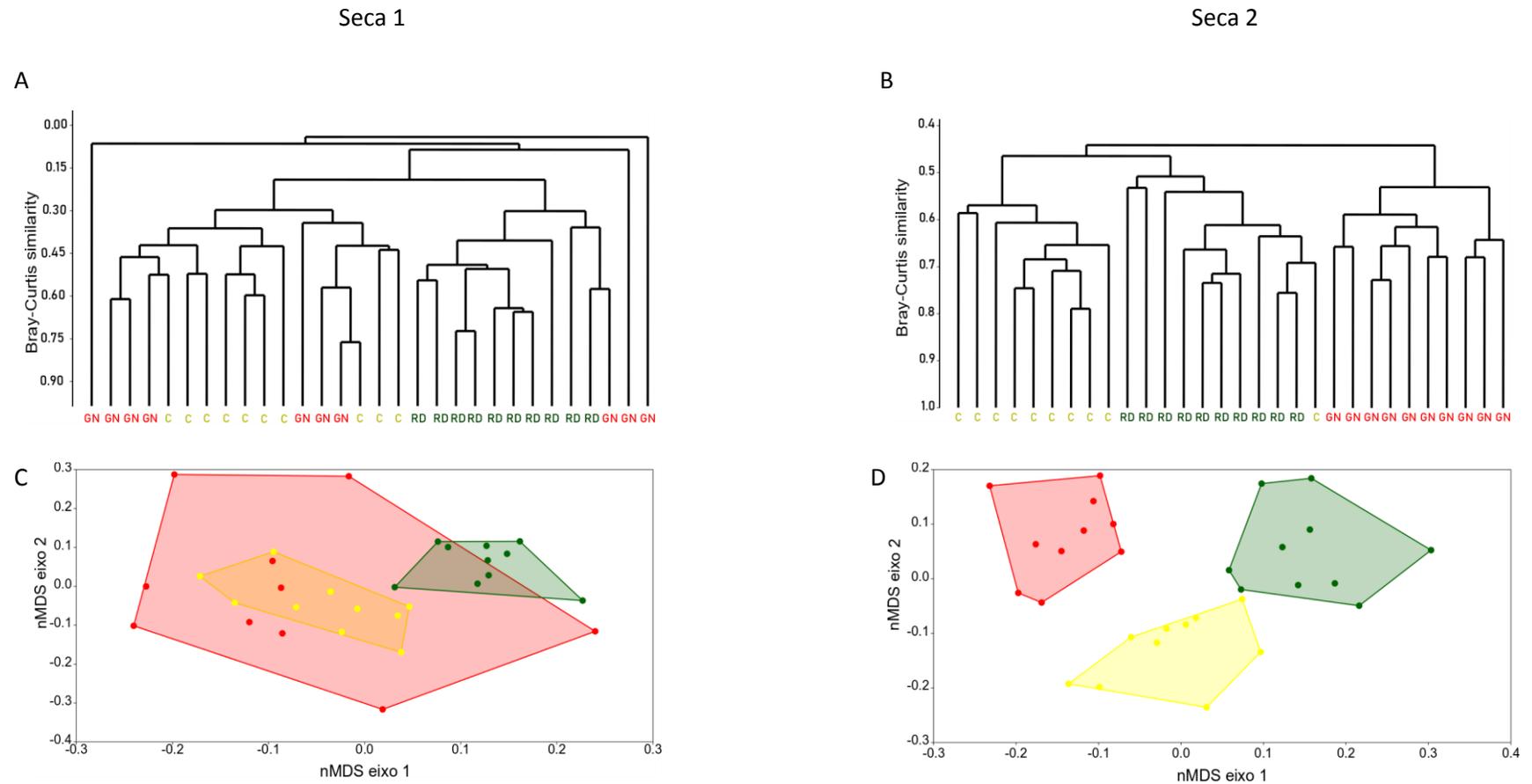


Figura 7. Dendrogramas de agrupamento hierárquico (A e B) e ordenação NMDS da similaridade na composição da comunidade (C e D) para as amostragens Seca 1 e Seca 2. O agrupamento é baseado na ligação da média do grupo a partir da similaridade de Bray-Curtis. Clusters em níveis de similaridade. As cores diferenciam os pontos de amostragem, sendo as amostras do rio Gualaxo do Norte representadas em vermelho, as do Rio Doce em verde e as do rio do Carmo em amarelo.

### 3.6. Riqueza, Diversidade e Índice de Contaminação por Metais (ICM)

Na estação chuvosa 1, a riqueza de espécies no rio Gualaxo do Norte foi significativamente ( $DF=27$ ,  $F=5,8$ ;  $P=0,008$ ) menor do que os valores observados nos rios do Carmo e Doce, que não diferiram entre si. Na estação seca 1, todos os sítios diferiram significativamente entre si ( $DF=27$ ,  $F=17,9$ ;  $P<0,001$ ), sendo que o rio Doce apresentou maior riqueza, seguido pelos rios do Carmo e Gualaxo do Norte, respectivamente. Na estação chuvosa 2, a maior riqueza foi observada no rio do Carmo, que diferiu significativamente ( $DF=27$ ,  $F=12,71$ ;  $P<0,001$ ) dos rios Gualaxo do Norte e Doce, que foram similares. Na estação seca 2, a riqueza de espécies no rio Doce diferiu significativamente ( $DF=27$ ,  $F=5,9$ ;  $P=0,007$ ) dos rios do Carmo e Gualaxo do Norte, que não diferiam entre si (Tabela 4).

A diversidade das comunidades perifíticas na estação chuvosa 1 não diferiu significativamente entre os sítios. Na estação seca 1, a diversidade foi significativamente maior ( $DF=27$ ,  $F=6,69$ ;  $P=0,004$ ) no rio Doce em relação aos demais ambientes estudados. Na estação chuvosa 2, o rio do Carmo apresentou maior diversidade, diferindo significativamente ( $DF=27$ ,  $F=12,4$ ;  $P<0,001$ ) do rio Doce. O rio Gualaxo do Norte apresentou um valor intermediário de diversidade, não diferindo significativamente dos outros dois sítios. A diversidade na estação seca 2 não apresentou diferenças significativas entre os três rios (Tabela 4).

Ao focar a comunidade de diatomáceas como bioindicadora, os valores absolutos do ICM e as classes de qualidade de água referentes a este índice para cada sítio amostral estão apresentados na tabela 4. O rio do Carmo nunca apresentou o maior valor de ICM em nenhuma das amostragens e seus maiores valores, intermediários aos dos demais rios, ocorreram somente nas estações chuvosa 1 e 2, se encaixando nas classes I e III, respectivamente. O rio Gualaxo do Norte apresentou maior valor de ICM nas estações chuvosa 1 e seca 2, se encaixando nas classes II e IV, respectivamente. O rio Doce apresentou maior valor de ICM nas estações seca 1 e chuvosa 2, se encaixando nas classes III e IV, respectivamente.

Tabela 4. Valores médios e desvios-padrão de riqueza e diversidade nos três sítios em todas amostragens e valor absoluto de ICM com as classes correspondentes para cada sítio de amostragem. Diferenças significativas ( $P < 0,05$ , ANOVA) entre os pontos são indicadas pelas letras diferentes. Valores maiores evidenciados pela cor rosa e valores menores evidenciados pela cor azul.

		Riqueza	Diversidade H' (bits/ $\mu\text{m}^3$ )	ICM (Classes)
Chuvosa 1	C	10,0( $\pm 2,1$ ) <sup>A</sup>	2,1( $\pm 0,7$ )	4,2 (I)
	GN	6,5( $\pm 3,1$ ) <sup>B</sup>	1,8( $\pm 0,7$ )	4,5 (II)
	RD	9,0( $\pm 6,9$ ) <sup>A</sup>	2,5( $\pm 0,5$ )	4,1 (I)
Seca 1	C	6,0( $\pm 2,8$ ) <sup>A</sup>	1,8( $\pm 0,7$ ) <sup>AB</sup>	4,0 (I)
	GN	3,5( $\pm 1,5$ ) <sup>B</sup>	1,1( $\pm 0,7$ ) <sup>A</sup>	4,5 (II)
	RD	9,0( $\pm 2,3$ ) <sup>C</sup>	2,3( $\pm 0,5$ ) <sup>B</sup>	5,6 (III)
Chuvosa 2	C	13,6( $\pm 4,2$ ) <sup>A</sup>	2,7( $\pm 0,3$ ) <sup>A</sup>	5,7 (III)
	GN	8,5( $\pm 3,8$ ) <sup>B</sup>	2,0( $\pm 0,7$ ) <sup>A</sup>	4,6 (II)
	RD	5,4( $\pm 2,3$ ) <sup>B</sup>	1,4( $\pm 0,5$ ) <sup>B</sup>	6,1 (IV)
Seca 2	C	15,1( $\pm 2,8$ ) <sup>A</sup>	2,5( $\pm 0,4$ )	6,2 (IV)
	GN	15,2( $\pm 2,8$ ) <sup>A</sup>	2,4( $\pm 0,9$ )	6,9 (IV)
	RD	11,0( $\pm 2,8$ ) <sup>B</sup>	2,3( $\pm 0,2$ )	6,7 (IV)

## 4. Discussão

### 4.1. Análises físicas e químicas

Os padrões climáticos em sistemas tropicais são caracterizados por oscilações relativamente baixas na incidência de radiação solar e na temperatura, sendo mais fortemente influenciados pela precipitação (Talling, 1987; Figueredo e Giani, 2009). Esse padrão foi evidenciado por meio da PCA voltada às variáveis mais comumente avaliadas em estudos limnológicos, a qual mostrou que a sazonalidade (aspecto temporal) foi mais importante em caracterizar os sistemas do que a separação dos sistemas em si (aspecto espacial). Apesar disso, foi ainda possível notar que o rio Gualaxo do Norte se manteve separado dos demais quanto à Componente 2, relacionada à eutrofização. Portanto, as variáveis tipicamente avaliadas em estudos limnológicos, não permitem detectar algum impacto de forma clara. Quanto à PCA relacionada aos metais, é interessante notar que a sazonalidade climática teve pouco efeito na distribuição dos pontos, não influenciando fortemente na diferenciação espacial entre os sistemas. A separação mais evidente ocorreu em função da menor concentração de metais justamente no sítio mais impactado pelos rejeitos, mantendo os pontos referentes ao rio Gualaxo do Norte mais afastados dos demais.

A partir das análises exploratórias (PCAs), foram detectadas as variáveis mais importantes em caracterizar os sítios amostrados (essencialmente nutrientes). Em relação às variáveis medidas *in situ*, foi observada uma separação dos sítios de amostragem na PCA segundo a data de coleta, entretanto uma vez que o objetivo do estudo é voltado somente às comparações entre sítios de amostragem, aspectos temporais não foram analisados estatisticamente.

As diferentes taxas de mobilização ou diluição de nutrientes também são influenciadas pelo regime de chuvas (Reichwaldt e Ghadouani, 2012). No presente estudo, sempre que houve diferenças significativas entre os ambientes com relação aos nutrientes, estas ocorreram nas estações chuvosas. Embora a PCA tenha evidenciado um agrupamento dos pontos que representam o rio Gualaxo do Norte afastado dos pontos que representam os outros sítios em relação aos nutrientes (Componente 2), as análises estatísticas nem sempre evidenciaram essa diferença para cada nutriente individualmente. A causa da separação na PCA parece indicar

que o rio Gualaxo do Norte foi frequentemente o mais pobre em nutrientes nitrogenados e fosforados de um modo geral, ainda que as medidas individuais de cada um desses nutrientes não mostraram diferenças estatísticas tão evidentes.

Pires et al. (2003), analisando a composição e o potencial poluidor dos rejeitos do complexo Germano, que inclui a barragem de Fundão, concluiu que estes apresentam concentrações de metais-traços abaixo dos limites estabelecidos pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). Tais limites são equivalentes, em sua maioria, aos estabelecidos pelo CONAMA, utilizados no presente estudo como parâmetro. Além disso, testes de solubilização e lixiviação realizados neste estudo, demonstraram que os rejeitos são inertes. Alguns estudos realizados posteriormente ao rompimento têm demonstrado que os sedimentos ribeirinhos dos rios contaminados pelos rejeitos possuem concentrações reduzidas de  $\text{NO}_3^-$  e de elementos como K, Ca, Mg, Fe, Zn, P, Cu e Mn, sendo também deficientes em nutrientes (Guerra et al., 2017; Santos et al., 2019; Cruz et al., 2020). Portanto, esta característica do rejeito pode explicar porque na PCA os pontos que representam o rio Gualaxo do Norte permaneceram separados dos demais, principalmente em relação à Componente 1. O rio Gualaxo do Norte foi o que apresentou menores concentrações de nutrientes, sendo também frequentemente observadas as menores concentrações de metais. Além disso, mesmo nos casos de concentrações um pouco mais elevadas de alguns metais, estas raramente ultrapassaram os limites estabelecidos pela legislação brasileira. Os resultados apresentados aqui não condizem com aqueles mencionados nos estudos de Hatje et al. (2017), Gomes et al. (2019) e Costa et al. (2019), que relataram aumentos nas concentrações de vários metais na bacia do rio Doce após o rompimento da barragem de Fundão. É provável que esta diferença seja consequência do presente estudo ter sido baseado em coletas mais recentes, sendo possível que as concentrações de metais fossem mais elevadas logo após o rompimento da barragem. Mesmo ao longo deste estudo, foi possível verificar menores concentrações de metais na última coleta, realizada dois anos após iniciarmos a amostragem, o que sugere certa diminuição dos efeitos do impacto.

A constatação de que, na maioria das vezes, o rio Gualaxo do Norte apresentou as menores concentrações de metais em relação aos outros rios, foi surpreendente. À exceção de Al e Mn, que estiveram em concentrações acima dos

limites legais, todos os outros elementos estiveram abaixo dos valores estabelecidos pela legislação em todos os sítios de amostragem. Em certos casos, as concentrações preocupantes foram observadas justamente no rio do Carmo, escolhido para ser usado aqui como uma referência de local não impactado pelos rejeitos. A maior concentração de Mn, por exemplo, foi registrada no rio do Carmo, o que foi também reportado em um estudo realizado pela Companhia de Pesquisa de Recursos Minerais comparando sistemas lóticos impactados e não impactados por rejeitos na bacia do rio Doce (CPRM, 2015). Tal estudo sugeriu que os valores observados são compatíveis com características geológicas de áreas do Quadrilátero Ferrífero, como a região de Mariana. Nossos dados foram ainda similares àqueles gerados e disponibilizados pelo Instituto Mineiro de Gestão das Águas (IGAM). O banco de dados do IGAM correspondente ao período estudado também apresenta, por várias vezes, concentrações de metais menores no rio Gualaxo do Norte do que aquelas registradas em sítios não impactados pelos rejeitos.

As baixas concentrações de metais observadas no sítio mais impactado contradizem nossa hipótese inicial. Assim, nota-se que o impacto precisa ser analisado sobre essa nova perspectiva e que a discussão dos dados gerados deve focar no quanto essa baixa disponibilidade de nutrientes e de elementos químicos em geral poderia impactar as comunidades biológicas desses sistemas. A comunidade perifítica tem sido usada com sucesso para monitorar os ambientes aquáticos, devido à sua sensibilidade frente às alterações ambientais (Pandey, 2020). Por isso, nós enfocamos as alterações na composição e estrutura dessa comunidade, como ferramenta de bioindicação da qualidade da água. Além disso, os dados gerados podem permitir verificar impactos dos rejeitos por um maior período de tempo, visto que a recuperação das comunidades biológicas tende a ser mais lenta do que mudanças em variáveis físicas e químicas (Serra et al., 2009).

#### **4.2. Comunidades perifíticas**

O biovolume das comunidades perifíticas sofreu uma variação em função da sazonalidade, pois, como esperado, a precipitação interfere nas condições físicas e químicas da água e também na disponibilidade de nutrientes (Zhou et al., 2012). Os nutrientes são subsídios importantes para o crescimento e estabelecimento das

comunidades perifíticas (Ludwig et al., 2008; Scott et al., 2009; Tromboni et al., 2019). A baixa biomassa pode ocorrer quando as concentrações de nutrientes estão muito baixas ou devido a perturbações, como, por exemplo, eventos de inundações (Biggs, 2000). Assim, é possível que o menor biovolume total do perifíton no rio Gualaxo do Norte seja consequência da menor disponibilidade de nutrientes registrada nesse ponto.

A sensibilidade das comunidades biológicas em resposta a uma série de fatores é vantajosa na detecção de diferenças entre pontos impactados e pontos não impactados (Stevenson, 2014; Figueredo et al. 2016; Torres-Franco et al., 2019). Embora tenha sido difícil detectar diferenças entre os três sítios avaliados e verificar o impacto por meio de cada variável física ou química isoladamente, a comunidade biológica pode sintetizar todo o conjunto de pequenas alterações e responder de modo bastante evidente aos impactos sofridos (Padisák, 1993). Assim, o biovolume total mostrou-se diferente entre os sítios de amostragem, podendo estar relacionado a uma limitação nutricional, dificilmente detectada por meio das comparações estatísticas realizadas para as concentrações dos nutrientes em si. Assim como em outros estudos, que detectaram menor biomassa perifítica em baixas concentrações de nutrientes (Biggs, 2000; Zhang et al., 2020; Ozersky e Camilleri, 2021), uma possível carência nutricional no rio Gualaxo do Norte pode ser a causa de sua menor biomassa perifítica em três das quatro coletas. Entretanto, outros fatores podem explicar os resultados obtidos, como, por exemplo, a remoção mecânica do perifíton ocasionada pela passagem dos rejeitos.

Os fluxos extremos e o carreamento de sedimentos em suspensão são responsáveis por remover o perifíton de substratos (Peterson e Stevenson, 1992; Gücker et al., 2009). Francoeur e Biggs (2006) constataram, através de experimentos laboratoriais, que aumentos da velocidade do fluxo e das concentrações de partículas em suspensão promoveram intensa remoção do perifíton em substratos artificiais. Nas áreas de estudo os rejeitos da mineração foram transportados principalmente como material particulado em suspensão pelo rio Gualaxo do Norte em direção a um pequeno trecho do rio do Carmo, não amostrado no presente estudo, seguindo até o rio Doce (Vergilio et al., 2021). Logo, o grande fluxo repentino no momento do rompimento da barragem e a passagem dos sedimentos, com sua ação abrasiva, podem ser importantes fatores

responsáveis pela baixa biomassa total do perifíton no rio Gualaxo do Norte ainda nas datas de amostragem deste estudo. É interessante notar que uma comparação realizada pelo IGAM entre os períodos secos dos três últimos anos sugeriu uma redução gradativa no número de violações dos limites de sólidos em suspensão. Os percentuais de resultados que ultrapassaram o limite legal foram de 21,43%, 17,92% e apenas 5,39%, respectivamente para os anos de 2017, 2018 e 2019 (IGAM, 2020). Isso sugere que as condições para restabelecimento do perifíton podem ter ficado menos restritivas ao longo dos últimos anos. Além disso, as violações foram observadas majoritariamente no período chuvoso. Como a última amostragem realizada no presente estudo e na qual foi observada maior biomassa de perifíton no rio Gualaxo do Norte ocorreu no período seco de 2019, as condições poderiam estar ainda mais favoráveis ao crescimento do perifíton. É importante considerar que a concentração limite estabelecida pela legislação pode não ser perfeitamente ajustada à sensibilidade das espécies. Zorzal-Almeida et al. (2021) concluíram que as comunidades perifíticas do baixo rio Doce eram sensíveis e sofriam alterações em sua estrutura sob menores concentrações de alguns elementos do que aquelas estabelecidas como limites legais.

Era esperado que a estrutura das comunidades fosse ainda mais sensível às alterações nas condições da água do que o biovolume total, pois os grupos taxonômicos podem ser diferentemente afetados pelos impactos e seus efeitos no ambiente (Gomes et al., 2021). A composição das comunidades foi diferente nos três ambientes, exceto na amostragem da seca 1, como mostraram as análises de Cluster, NMDS e PERMANOVA. No rio do Carmo, as espécies predominantes foram, na maior parte do tempo, representantes do grupo Bacillariophyta, como *Cocconeis placentula*, *Navicula cryptocephalla* e *Nitzschia palea*. É interessante notar que essas espécies já foram reportadas como indicadoras de poluição orgânica (Kelly et al., 2001). Isso é compatível com a falta de tratamento de esgoto doméstico que é recebido pelo rio do Carmo. Segundo o Comitê da Bacia Hidrográfica (CBH – Doce), 80% do esgoto sanitário gerado pelos municípios que se localizam ao longo da bacia do rio Doce seguem diretamente para os rios sem qualquer tipo de tratamento. Uma vez que o ponto amostrado no rio do Carmo é relativamente próximo, cerca de 2 km a jusante da cidade de Acaiaca (3.994

habitantes), uma possível contaminação por esgotos pode ter contribuído com o predomínio dessas espécies.

As condições de impacto intermediário pelos rejeitos no ponto de amostragem do rio Doce coincidiram com a dominância de espécies dos gêneros *Stigeoclonium* (Chlorophyta) e *Phormidium* (Cyanobacteria). Essas são, frequentemente, formadoras de comunidades em ambientes estáveis e em riachos com concentrações intermediárias de nutrientes (Rosemond, 1994; Biggs, 2000; Felisberto e Rodrigues, 2012). Além disso, foram dominantes também as espécies *Cocconeis placentula* e *Navicula cryptocephala*, já mencionadas como abundantes no rio do Carmo. Esses resultados podem indicar um gradiente de impacto por esgotos entre o sítio do rio do Carmo e o sítio amostrado no rio Doce. Diferentemente dos demais pontos de amostragem, a composição florística do perifíton no rio Gualaxo do Norte foi dominada principalmente pela espécie *Achnanthydium minutissimum* (Bacillariophyta). Alguns autores (Kelly et al., 1995; Ponader e Potapova, 2007; Pham, 2020) estudaram a ecologia e distribuição de espécies do gênero *Achnanthydium* e observaram que as maiores abundâncias de *A. minutissimum* foram principalmente associadas escassez de nutrientes e baixas concentrações de íons na água, embora não se restrinja a tais ambientes. Outros estudos apontam *A. minutissimum* como uma espécie pioneira em colonizar substratos que se tornaram disponíveis após mudanças ambientais devido a distúrbios químicos (Peterson e Stevenson, 1992; DeNicola, 2000; Sabater, 2000; A. Villeneuve et al., 2010). Portanto, a predominância dessa espécie no rio Gualaxo do Norte pode ser indicadora de condições inadequadas em termos nutricionais, físicos ou químicos nesse ambiente. Isso corrobora a nossa segunda hipótese e com as análises anteriormente mencionadas nesse estudo.

Assim como observado para o biovolume, houve um mesmo padrão em relação aos dados de riqueza de espécies, com os menores valores de riqueza registrados no rio Gualaxo do Norte durante as três primeiras amostragens. Essa tendência é mais evidente quando a riqueza no rio Gualaxo do Norte é comparada com aquela observada no rio do Carmo, enquanto que no rio Doce, proporcionalmente menos impactado do que o rio Gualaxo do Norte, apresentou riqueza mais baixa do que o rio do Carmo em apenas metade das amostragens. A riqueza de espécies pode variar ao longo de um gradiente de condições, com

respostas neutras ou mesmo positivas em níveis baixos de estressores e efeitos negativos em níveis mais altos (Çelekli et al., 2019b; Charles et al., 2021).

A riqueza se baseia no número de espécies presentes nas amostras, não considerando a abundância relativa das espécies. Assim, espera-se que uma análise que quantifique e avalie dados de cada espécie e sua importância na comunidade possa ser mais sensível para a detecção de diferenças ou alterações. A avaliação da estrutura da comunidade com base na diversidade é mais refinada do que somente com base na riqueza, visto que a diversidade considera a abundância relativa de cada uma das espécies (Stevenson, 2014). Entretanto, nossos resultados não mostraram um padrão claro para os valores de diversidade de Shannon entre os sítios. Nas duas amostragens em que houve diferenças significativas, apenas em uma delas o rio Gualaxo do Norte foi caracterizado por um menor valor de diversidade. O período que foi caracterizado pela maior biomassa no rio Gualaxo do Norte não resultou em um aumento no valor do índice de Shannon-Wiener, sugerindo que o aumento populacional ocorreu apenas entre poucas espécies.

Além da diversidade, o Índice de Contaminação por Metais também não teve um padrão bem definido. Apesar do ICM ser relacionado a um processo de acidificação e disponibilização de metais dissolvidos, intensificado por atividades minerárias (Fernandez et al., 2017), os dados gerados não permitiram verificar uma relação direta entre as concentrações de metais e o ICM. Por exemplo, quando ocorreu o fato de um metal exceder os valores permitidos pela legislação, como o Al no rio Doce na estação chuvosa 1, foi detectado o menor valor de ICM. Além do pouco ajuste entre a legislação e a sensibilidade das espécies, este resultado pode ser consequência de uma diferença na concentração de apenas um único metal.

## 5. Conclusão

A bioindicação pode ser uma ferramenta muito relevante em estudos com foco na qualidade da água, uma vez que o levantamento de variáveis físicas e químicas são frequentemente insuficientes para detectar e avaliar impactos ambientais. No presente estudo, analisamos as comunidades perifíticas paralelamente às variáveis abióticas dos rios, a fim de identificar as possíveis correlações entre ambas. Foi confirmada a sensibilidade dessas comunidades em indicar impactos ambientais, pois, de maneira geral, detectamos menor biomassa e riqueza nos locais impactados pela onda de rejeitos oriundos da barragem de Fundão. Esses ambientes geralmente apresentaram menores concentrações de nutrientes e metais. Na busca por uma análise mais precisa acerca desse impacto, também aplicamos um índice de contaminação por metais, que não indicou contaminação. Foi possível realizar uma análise comparativa por um período mais longo somente para dados físicos e químicos e em alguns dos sítios amostrados, pois nesses locais já eram feitas análises de monitoramento. Entretanto, não foi possível comparar dados biológicos gerados neste estudo com dados anteriores, visto que o enfoque do monitoramento é essencialmente físico e químico. Dessa forma, acreditamos que nosso estudo poderá contribuir como uma base de dados biológicos para análises futuras. Além disso, poderá reforçar o uso da comunidade perifítica como bioindicadora, permitindo avaliar os impactos dos rejeitos de mineração no rio Doce e em outros ambientes sujeitos a esse tipo de atividade econômica.

## 6. Referências

Almeida, H. A., Silva, J. G., Custodio, I. G. Karam, D., Garcia, Q. S., 2022. Productivity and food safety of grain crops and forage species grown in iron ore tailings. *Journal of Food Composition and Analysis*, 105:104-198.

ANA - Agência Nacional das Águas. Sala de situação rio doce – saiba mais inferior. 24 de ago. de 2018. Disponível em <<https://www.ana.gov.br/sala-de-situacao/rio-doce/saiba-mais-inferior>> acesso em 10 de nov. 2020.

Aires, U.R.V., Santos, B.S.M., Coelho, C.D., Silva, D.D., Calijuri, M.L., 2018. Changes in land use and land cover as a result of the failure of a tailings dam in Mariana, MG, Brazil. *Land Use Policy*, 70:63-70.

Akcil, A., Koldas, S., 2006. Acid mine drainage (AMD): causes, treatment and case studies. *Journal of Cleaner Production*, 14:1139-1145.

Alvares, C.A., Stape, J.L., Sentelhas, P.C., Gonçalves J.L.M., Sparovek, G., 2014. Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift*, 22:711-728.

Azam, S., Li, Q., 2010. Tailings dam failures: a review of the last one hundred years. *Geotechnical News*, 28:50-54.

Bellinger B.J., Cocquyt C., O'Reilly C.M., 2006. Benthic diatoms as indicators of eutrophication in tropical streams. *Hydrobiologia*, 573:75-87.

Biggs, B.J.F., 1996. Patterns in benthic algal of streams. In: Stevenson, R.J.; Bothwell, M.L., Lowe, R.L. (eds). *Algal ecology: freshwater benthic ecosystems*. Academic Press, New York, 31:56.

Biggs, B.J.F., 2000. Eutrophication of streams and rivers: dissolved nutrient-chlorophyll relationships for benthic algae. *Journal North American Benthological Society*, 19:17-31.

Carmo, F.F., Kamino, L.H.Y., Junior, R.T., Campos, I.C., Carmo, F.F., Silvino, G., Castro, K.J.S., Mauro, M.L., Rodrigues, N.U.A., Miranda, M.P.S, Pinto, C.E.F., 2017. Fundão tailings dam failures: the environment tragedy of the largest technological

disaster of Brazilian mining in global context. *Perspectives in Ecology and Conservation*, 15:145-151.

CBH Doce – Comitê de Bacia Hidrográfica do Doce, 2015. Diagnóstico Consolidado da Bacia. Disponível em: <<https://www.cbhdoce.org.br/wp-content/uploads/2015/02/diagnostico.pdf>>, acesso em 20 de novembro de 2021.

Çelekli A., Toudjani A.A., Gümüş E.Y., Kayhan S., Lekesiz H.Ö., Çetin, T., 2019b. Determination of trophic weight and indicator values of diatoms in Turkish running waters for water quality assessment. *Turkish Journal of Botany*, 43:90-101.

Çelekli, A. Ömer, L., Çetin, T., 2022. Eco-assessment of least disturbed areas of the Antalya River basin: application of diatom indices from different ecoregions. *Environmental Science and Pollution Research*, 29:790-804.

Charles D.F., Kelly M.G., Stevenson R.J., Poikane S., Theroux, S., Zgrundo A., Cantonati, M., 2021. Benthic algae assessments in the EU and the US: Striving for consistency in the face of great ecological diversity. *Ecological Indicators*, 121:107-082.

Cohen, R., 2006. Use of microbes for cost reduction of metal removal from metals and mining industry waste streams. *Journal of Cleaner Production*, 14:1146-1157.

CONAMA, Conselho Nacional do Meio Ambiente -. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF (18 mar. 2005).

Costa, G.B., Ramlov, F., Ramos, B., Koerich, G., Gouvea, L., Costa, P.G., Bianchini, A., Maraschin, M., Horta, P.A., 2019. Physiological damages of *Sargassum cymosum* and *Hypnea pseudomusciformis* exposed to trace metals from tailing. *Environmental Science and Pollution Research*, 26:36486-36498.

CPRM, Serviço Geológico do Brasil, 2015. Monitoramento Especial do Rio Doce: Relatório 02 Geoquímica. Segunda Campanha de Campo 12 a 23 de novembro de 2015. Belo Horizonte - MG, Brasil. <[http://www.cprm.gov.br/publique/media/RT\\_02\\_2015\\_MONIT\\_ESP\\_BACIA\\_RIO\\_D OCE\\_v4\\_.pdf](http://www.cprm.gov.br/publique/media/RT_02_2015_MONIT_ESP_BACIA_RIO_D OCE_v4_.pdf)>, acesso em 25 de abril de 2020.

- Cruz, F.V.S., Gomes, M.P., Bicalho, E.M., Torre, F.D., Garcia, Q.S., 2020. Does Samarco's spilled mud impair the growth of native trees of the Atlantic Rainforest?. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 189:1-12.
- Cupertino, A. Gücker, B., Von Rückert, G. Figueredo, C. C., 2019. Phytoplankton assemblage composition as an environmental indicator in routine lentic monitoring: Taxonomic versus functional groups. *Ecological Indicators*, 101:522-532.
- Dale, V.H., Beyeler, S.C., 2001. Challenges in the development and use of ecological indicators. *Ecological Indicators*, 1:3-10.
- De Nicola, D. M., 2000. A review of diatoms found in highly acidic environments. *Hydrobiologia*, 433:111-112.
- Esteves, G.F., Souza, K.R.D., Bressanin, L.A., Andrade, P.C.C., Júnior, V.V., Reis, P.E., Silva, A.B., Mantovani, R.J., Magalhães, P.C., Pasqual, M., Souza, T.C., 2020. Vermicompost improves maize, millet and sorghum growth in iron mine tailings. *Journal of Environmental Management*, 264:110-468.
- Felisberto, S.A., Rodrigues, L., 2012. Successional dynamic of the periphytic algal community in ecosystem lotic subtropical. *Rodriguésia*, 63: 463-473.
- Fernandes, G.W., Goulart, F.F., Ranieri, B.D., Coelho, M.S., Dales, K., Boesche, N., Bustamante, M., Carvalho, F.A., Carvalho, D.C., Dirzo, R., Fernandes, S., Galetti Jr, P. M., Millan, V.E.G., Mielke, C., Ramirez, J.L., Neves, A., Rogass, C., Ribeiro, S.P., Scariot, A., Soares-Filho, B., 2016. Deep into the mud: ecological and socio-economic impacts of the dam breach in Mariana, Brazil. *Brazilian Journal of Nature Conservation*, 14:35-45.
- Fernández, M.R., Martín, G., Corzo, J., Linde, A., García, E., López, M., Sousa, M., 2018. Design and Testing of a New Diatom-Based Index for Heavy Metal Pollution. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 74:170-192.
- Figueredo, C.C., Giani, A., 2001. Seasonal variation in the diversity and species richness of phytoplankton in a tropical eutrophic reservoir. *Hydrobiologia*, 445:165-174.

Figueredo, C.C., Giani, A., 2005. Ecological interactions between Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, L.) and the phytoplanktonic community of the Furnas Reservoir (Brazil). *Freshwater Biology*, 50:1391-1403.

Figueredo, C.C., Giani, A., 2009. Phytoplankton community in the tropical lake of Lagoa Santa (Brazil): conditions favoring a persistent bloom of *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Limnologica-Ecology and Management of Inland Waters*, 39:264-272.

Figueredo, C.C., Rückert, G. V., Giani, A., 2016b. The necessity of management in a lake of the Atlantic Forest biodiversity hotspot: nitrogen levels connected to a persistent bloom of *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Acta Botanica Brasilica*, 30:222-231.

Giani, A., Bird, D.F., Praire, Y.T., Lawrence, J.F., 2005. Empirical study of cyanobacterial toxicity along a trophic gradient of lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 62:2100-2109.

Gomes, M.P., Kochi, L.Y, Freitas, P.L., Figueredo, C.C., Juneau, P. Periphytic Algae and Cyanobacteria from the Rio Doce Basin Respond Differently to Metals and Salinity, Showing Different Potential for Bioremediation. *Plants*, 10:23-49.

Gomes, L.C., Chippari-Gomes, A.R., Miranda, T.O., Pereira, T.M., Merçon, J., Davel, V.C., Ramos, J.P.L., 2019. Genotoxicity effects on *Geophagus brasiliensis* fish exposed to Doce River water after the environmental disaster in the city of Mariana, MG, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 79:659-664.

Gücker, B., Boëchat, I.G., Giani, A., 2009. Impacts of agricultural land use on ecosystem structure and whole-stream metabolism of tropical Cerrado streams. *Freshwater Biology*, 54:2069-2085.

Guerra, M.B.B., Teaney, B.T., Mount, B.J., Asunskis, D.J., Jordan, B.T., Barker, R.J., Santos, E.E., Schaefer, C.E.G.R., 2017. Post-catastrophe analysis of the Fundão tailings dam failure in the Doce River system, southeast Brazil: potentially toxic elements in affected soils. *Water Air Soil Pollut*, 228:1-12.

Gunson, A.J., Klein, B., Veiga, M., Dunbar, S., 2012. Reducing mine water requirements. *Journal of Cleaner Production*, 21:71-82.

Hatje, V., Pedreira, R.M., de Rezende, C.E., Schettini, C.A.F., Souza, G.C., Marin, D.C., Hackspacher, P.C., 2017. The environmental impacts of one of the largest tailings dam failures worldwide. *Scientific reports*, 7:1-13.

Hillebrand, H., Durselen, C-D., Kirschtel, D., Pollinger, U., Zohary, T., 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology*, 35:403-424.

Hammer Ø, Harper D.A.T, Ryan P.D., 2001. Past: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4:1-9.

IBAMA, 2015. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, Ministério do Meio Ambiente. Diretoria de Proteção Ambiental e DIPRO e Coordenação Geral de Emergências Ambientais - CGEMA. Laudo Técnico Preliminar: impactos ambientais decorrentes do desastre envolvendo o rompimento da barragem de Fundão, em Mariana, Minas Gerais, Novembro de 2015. <[http://www.ibama.gov.br/phocadownload/barragemdefundao/laudos/laudo\\_tecnico\\_preliminar\\_ibama.pdf](http://www.ibama.gov.br/phocadownload/barragemdefundao/laudos/laudo_tecnico_preliminar_ibama.pdf)>, acesso em 22 de março de 2020.

IGAM, Instituto Mineiro de Gestão das Águas, 2015. Acompanhamento da Qualidade das Águas do Rio Doce Após o Rompimento da Barragem da Samarco no distrito de Bento Rodrigues – Mariana/MG <<http://www.repositorioigam.meioambiente.mg.gov.br/jspui/handle/123456789/473>>, acesso em 22 de março de 2020.

IGAM, Instituto Mineiro de Gestão das Águas, 2020. Encarte especial sobre a qualidade das águas do Rio Doce após 4 anos de rompimento da barragem de fundão 2015-2019. Belo Horizonte: IGAM, <<http://www.repositorioigam.meioambiente.mg.gov.br/jspui/handle/123456789/3215>>, acesso em 20 de novembro de 2021.

Ivorra N., Hettelaar J., Tubbing, G.M.J, Kraak M.H.S., Sabater S., Admiraal W., 1999. Translocation of microbenthic algal assemblages used for in situ analysis of metal pollution in rivers. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 37:19-28.

Kelly M.G., Chiriac G., Soare-Minea A., Hamchevici C., Birk S., 2019. Defining ecological status of phytobenthos in very large rivers: A case study in practical

implementation of the Water Framework Directive in Romania. *Hydrobiologia*, 828:353-367.

Kovalak, W. P., 1978. Diel changes in stream benthos density on stones and artificial substrates. *Hydrobiologia* 58:7-16.

Kuklina, I., Kouba, A., Kozák, P., 2013. Real-time monitoring of water quality using fish and crayfish as bio-indicators: a review. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185:5043-5053.

Lobo, E.A., Heinrich, C.G., Schuch, M., Wetzel, C.E., Ector, L., 2016. Diatoms as Bioindicators in Rivers. In: Necchi JR O. (eds). *River Algae*, 11:245-271.

Ludwig, A., Matlock, B., Matlock, E., Cummings, E., 2008. Identification and evaluation of nutrient limitation of periphyton growth in headwater streams in Pawnee Nation, Oklahoma. *Ecological Engineering*, 32:178-186.

Myers, N., Mittermeier, A.R., Mittermeier, C.G. , Gustavo A. B. da Fonseca, G.A.B., Kent, J., 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403:853–858.

Neved, M., Jansz, J., 2006. Waste water pollution control in the Australian mining industry. *Journal of Cleaner Production*, 14:1118-1120.

Ozersky, T., Camilleri, A., 2021. Factors regulating lake periphyton biomass and nutrient limitation status across a large trophic gradient. *Freshwater Biology*, 66: 2338-2350.

Padisaák, J., 1993. Use of algae for water quality monitoring. In: Salánki, J., Istvánovics, V. (Eds.), *Limnological Bases of Lake Management*. Committee Foundation, Shiga, 73-82.

Pandey, L.K., 2020. In situ assessment of metal toxicity in riverine periphytic algae as a tool for biomonitoring of fluvial ecosystem. *Environmental Technology & Innovation*, 18:100-675.

Peterson, C.G., Stevenson, R.J., 1992. Resistance and resilience of lotic algal communities: importance of disturbance timing and current. *Ecology*, 73:1445-1461.

- Pires, J.M.M., Lena, J.C.D., Machado, C.C., Pereira, R.S., 2003. Potencial poluidor de resíduo sólido da Samarco Mineração: estudo de caso da barragem do Germano. *Revista Árvore*, 27:393-397.
- Pham, T. L., 2020. Using Benthic Diatoms as a Bioindicator to Assess Rural-urban River Conditions in Tropical Area: A Case Study in the Sai Gon River, Vietnam. *Pollution*, 6:387-398.
- Queiroz, H.M., Nóbrega, G.N., Ferreira, T.O., Almeida, L.S., Romero, T.B., Santaella, S. T., Bernardino, A.F., Otero, X.L., 2018. The Samarco mine tailing disaster: a possible time-bomb for heavy metals contamination?. *Science of the Total Environment*, 637:498-506.
- Reichwaldt, E.S., Ghadouani, A., 2012. Effects of rainfall patterns on toxic cyanobacterial blooms in a changing climate: between simplistic scenarios and complex dynamics. *Water Research*, 46:1372-1393.
- Rico, M., Benito, G., Salgueiro, A.R., Díez-Herrerod, A., Pereirac, H.G., 2008. Reported tailings dam failures: a review of the European incidents in the worldwide context. *Journal of Hazardous Materials*, 152:846-852.
- Rosemond, A.D., 1994. Multiple factors limit seasonal variation in periphyton in a forest stream. *Journal of the North American Benthological Society*, 13:333-344.
- Rott, E., 1981. Some results from phytoplankton counting intercalibrations. *Schweiz. Z. Hydrologie*, 43:34-62.
- Sabater, S., 2000. Diatom communities as indicators of environmental stress in the Guadiamar River, S-W. Spain, following a major mine tailings spill. *Journal of Applied Phycology*, 12:113-24.
- Santos, O.S.H., Avellar, F.C., Alves, M., Trindade, R.C., Menezes, M.B., Ferreira, M.C., França, G.S., Cordeiro, J., Sobreira, F.G., Yoshida, I.M., Moura, P.M., Baptista, M.B., Scotti, M.R. 2019. Understanding the Environmental Impact of a Mine Dam Rupture in Brazil: Prospects for Remediation. *Journal of Environmental Quality*, 48:439-449.
- Scott, J.T., Lang, D.A., King, R.S., Doyle, R.D., 2009. Nitrogen fixation and phosphatase activity in periphyton growing on nutrient diffusing substrata: evidence

for differential nutrient limitation in stream periphyton. *Journal of the North American Benthological Society*, 28:57-68.

Segura, F.R., Nunes, E.A., Paniz, F.P., Paulelli, A.C.C., Rodrigues, G.B., Braga, G.Ú.L., Batista, B.L., 2016. Potential risks of the residue from Samarco's mine dam burst (Bento Rodrigues, Brazil). *Environmental Pollution*, 218:813-825.

Serra, A., Corcoll, N., Guasch, H., 2009. Copper accumulation and toxicity in fluvial periphyton: The influence of exposure history. *Chemosphere*, 74:633-641.

Shannon, C.E., Weaver, W., 1949. *The Mathematical Theory of Communication*. Urbana: University of Illinois Press. Urbana, 177.

Shelly, T.E., 1979. The effect of rock size upon the distribution of species of Orthoclaadiinae (Chironomidae: Diptera) and *Baetis intercalaris* McDunnough (Baetidae: Ephemeroptera). *Ecological Entomology*, 4:95-100.

Sládecková, A., 1962. Limnological investigation methods for the periphyton ("Aufwuchs") community. *The Botanical Review*, 28:286-350.

Stevenson R.J., Pan Y., Manoylov, K.M., Parker, C.A., Larsen, D.P., Herlihy, A. T., 2008. Development of diatom indicators of ecological conditions for streams of the western US. *Journal of the North American Benthological Society*, 27:1000-1016.

Stevenson, J., 2014. Ecological assessments with algae: a review and synthesis. *Journal of Phycology*, 50:437-461.

Sun, J., Liu, D., 2003. Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. *Journal of Plankton Research*, 25:1331-1346.

Suter, G. W., 2001. Applicability of indicator monitoring to ecological risk assessment. *Ecological Indicators*, 1:101-112.

Tavares, V.C., Perini, F.A., Lombardi, J.A., 2007. The bat communities (Chiroptera) of the Parque Estadual do Rio Doce, a large remnant of Atlantic Forest in southeastern Brazil. *Lundiana*, 8:35-47.

Tromboni, F., Lourenço-Amorim, C., Neres-Lima, V., Thomas, S.A., Silva-Araújo, M., Feijó-Lima, R., Silva-Júnior, E.F., Heatherly II, T., Timothy, T.P., Zandonà, E., 2019. Conversion of tropical forests to agriculture alters the accrual, stoichiometry, nutrient

limitation, and taxonomic composition of stream periphyton. *Hydrobiology*, 104:116-126.

Torres-Franco, A.F., Alatriza-Góngora, G.R., Guzmán-Rodríguez, N.P., Calizaya-Anco, J.A., Mota, C.R., Figueredo, C.C., 2019. Physicochemical and diatom trophic state indexes: A complementary approach for improving water sustainability in a high Andean urban stream. *Ecohydrology and Hydrobiology*, 19:577-587.

Utermöhl, H., 1958. Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. *Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie: Mitteilungen*, 9:1-38.

Vergilio, C.S., Lacerda, D., Oliveira, B.C.V., Sartori, E., Campos, G.M., Pereira, A.L.S., Aguiar, D.B., Souza, T.S., Almeida, M.G., Thompson, F., Rezende, C.E., 2021. Immediate and long-term impacts of one of the worst mining tailing dam failure worldwide (Bento Rodrigues, Minas Gerais, Brazil). *Science of The Total Environment*, 756:143697-143709.

Villeneuve, A., Montuelle, B., Bouchez, A., 2010. Influence of slight differences in environmental conditions (light, hydrodynamics) on the structure and function of Periphyton. *Aquatic Sciences*, 72:33-44.

Wetzel, R.G., 1990. Land-water interfaces: metabolic and limnological regulators. *Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie: Verhandlungen*, 24:6-24.

Zhang, J., Shu, X., Zhang, Y., Tan, X., Zhang, Q., 2020. The responses of epilithic algal community structure and function to light and nutrients and their linkages in subtropical rivers. *Hydrobiologia*, 847:841-855.

Zhou, G., Zhao, X., Bi, Y., Hu, Z., 2012. Effects of rainfall on spring phytoplankton community structure in Xiangxi Bay of the Three-Gorges Reservoir, China. *Fresenius Environmental Bulletin*, 21:3533-3541.

Zizek, S., Millac, R., Kovac, N., Imovic, J.R., Toman, M.J., Horvat, M., 2011. Periphyton as a bioindicator of mercury pollution in a temperate torrential river ecosystem. *Chemosphere*, 85:883-891.

Zorzal-Almeida, S., Fernandes, V.O., 2021. Ecological thresholds of periphytic communities and ecosystems integrity in lower Doce river basin. *Science of The Total Environment*, 796:148-965.